



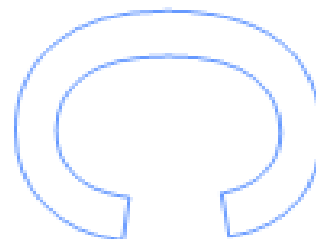
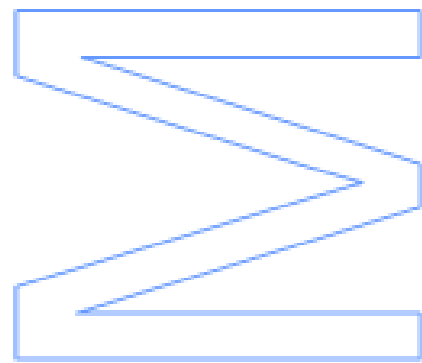
# **Avaliação do desempenho de uma ETAR de lamas ativadas através do estudo das comunidades microbiológicas do licor misto**

**Ana Filipa Soares Barroso**

Mestrado em Biologia e gestão da Qualidade da Água  
Departamento de Biologia  
2012

## **Orientador**

Doutora Ana Paula Mesquita Rodrigues da Cunha Nicolau,  
Investigadora auxiliar, Universidade do Minho

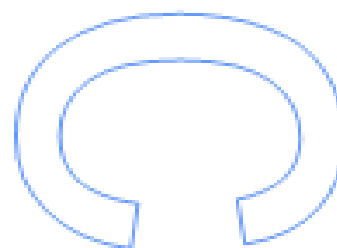
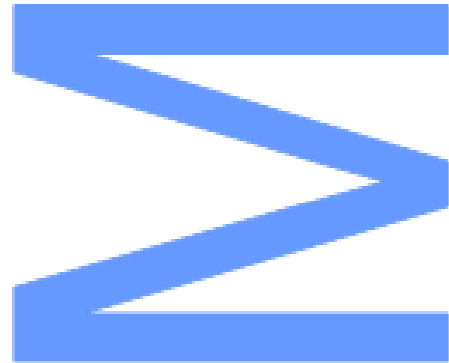




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O presidente do júri,

Porto, \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_



## Agradecimentos

Começo por agradecer à minha orientadora, Doutora Ana Nicolau, pela oportunidade que me deu em realizar a dissertação nesta área e por toda a ajuda fornecida para a concretização da mesma. Desde as suas sugestões de trabalho e a sua preocupação na escolha do meu local de trabalho, à orientação científica, conhecimentos fornecidos, cedência de bibliografia, material e esclarecimento de dúvidas, para além da simpatia, amizade e confiança com que sempre me presenteou.

Ao Eng.<sup>o</sup> Fernando Ferreira, diretor da ETAR de Gaia Litoral, pela resposta positiva que eu tanto ansiava, permitindo a minha “estadia” na ETAR de Gaia Litoral, pelo interesse com que encarou este trabalho, e pelo fornecimento dos resultados das análises físico-químicas essenciais para a elaboração deste projeto.

À equipa técnica da ETAR de Gaia Litoral pela hospitalidade com que me acolheram, criando um ambiente de trabalho excecional. Um obrigada especial às pessoas que, nesta ETAR, mais me ajudaram na parte prática da dissertação: à Eng.<sup>a</sup> Ermelinda Barreiro pelos conhecimentos transmitidos, pela disponibilidade no esclarecimento das minhas dúvidas e pela colaboração prestada na elaboração deste trabalho, e pela amizade demonstrada ao longo deste estágio; à Eng.<sup>a</sup> Iolanda pela simpatia e boa disposição constantes, pela ajuda fornecida na realização das análises físico-químicas e por todos os conhecimentos transmitidos; à Eng.<sup>a</sup> Sílvia Fortuna pelo apoio, incentivo e disponibilidade prestados, e à Eng.<sup>a</sup> Elizabete, por todos os momentos de descontração criados, amabilidade e capacidade de me pôr um sorriso no rosto em todas as situações. Tenho ainda a agradecer aos meus colegas de laboratório, Vanessa, José Luís, Rúben e Daniela, pela ajuda prestada no laboratório e pelos momentos de diversão vividos, e a todos os operadores da ETAR de Gaia Litoral pela recolha de amostras.

Um grande obrigada à Vânia e à Liliana, do Laboratório de Microbiologia Ambiental, do Departamento de Engenharia Biológica da Universidade do Minho, por toda a ajuda prestada, pelos conhecimentos partilhados e pelo auxílio na identificação de protozoários e filamentosas e na análise estatística.

Às três pessoas que me acompanharam durante todo o meu percurso académico, as minhas grandes amigas, Marlene, Mónica e Rita, pelos bons momentos vividos e partilhados, pelo incentivo e amizade.

Finalmente, agradeço aos meus pais, pelo interesse sobre a “saúde dos meus bichinhos”, por me terem instigado a procurar e investigar as respostas às minhas questões ou dúvidas. Um obrigada ao meu irmão, o meu “motorista de serviço” e mais tarde “copiloto”, por tantas vezes me ter levado ou acompanhado até à ETAR e à Universidade do Minho, pela sua paciência que nunca esgotou, e à minha irmã por me ter assistido sempre que necessário e por toda a amizade.



## Sumário

Este trabalho foi desenvolvido na Estação de Tratamento de Águas Residuais (ETAR) de Gaia Litoral, no período compreendido entre abril e julho de 2012, e teve como objetivo a análise das comunidades microbiológicas (protozoários e bactérias filamentosas) e a sua associação com os parâmetros físico-químicos e operacionais da referida ETAR.

De um modo geral, os resultados relativos à comunidade de protozoários e metazoários corroboraram os de outros estudos já existentes, referentes à associação de determinados grupos funcionais com a qualidade do efluente. Os ciliados sésseis e móveis de fundo foram os grupos de ciliados dominantes, e as amibas com teca frequentemente observadas, traduzindo boas condições de depuração, logo efluentes de boa qualidade.

A identificação de bactérias filamentosas revelou que o Tipo 0041/0675 (100%), *Haliscomenobacter hydrossis* (58%), o Tipo 0092 (65%) e *Nocardia* spp. (88%), foram os organismos mais comuns, sendo esta última dominante na maioria das amostras. Os principais fatores associados ao seu crescimento foram a temperatura, a taxa Alimento/Microrganismo (A/M), a idade das lamas e as concentrações da Carência Bioquímica de Oxigénio ao fim de 5 dias (CBO<sub>5</sub>), da Carência Química de Oxigénio (CQO) e dos Sólidos Suspensos Totais (SST) no afluente. Um aumento do tamanho dos filamentos resultou, por vezes, na redução das propriedades de sedimentação da biomassa, verificando-se a perda de lamas através do efluente final. No entanto, em geral, estas colaboraram com o tratamento biológico, não tendo sido detetadas alterações significativas ao nível da qualidade do efluente final.

Através da associação dos parâmetros físico-químicos com a microfauna observada nas lamas ativadas, para além dos resultados da análise estatística, concluiu-se que a *Opercularia* spp. e os ciliados nadadores mostraram-se resistentes a baixas concentrações de oxigénio, e estiveram presentes quando estavam em causa efluentes com elevada carga orgânica. Ambos mostraram estar correlacionados com a concentração de CQO no efluente final e respetiva percentagem de remoção, podendo servir como indicadores de condições de deterioração no tanque de arejamento, resultando em efluentes de má qualidade em termos de CQO. Entre a espécie *Tetrahymena pyriformis* e a concentração de nitratos no tanque biológico obteve-se uma associação positiva, evidenciando o seu possível uso como indicador de condições nitrificantes. O aparecimento tanto da *Opercularia* spp., como dos ciliados

nadadores coincidiu com o desenvolvimento da filamentosa *Nostocoida limícola II* e do Tipo 1863, as quais são igualmente favorecidas por baixas concentrações de oxigénio dissolvido (OD). Donde, provavelmente, a associação entre uns e outras não é direta, mas sim mercê de ambos serem favorecidos pelas mesmas condições ambientais. Também os coeficientes de correlação entre estas duas filamentosas e a concentração de nitratos evidenciaram uma associação positiva.

Das 5 espécies de ciliados móveis de fundo, quatro tiveram correlações negativas significativas com a taxa A/M, sendo que a dominância deste grupo pode servir como indicador de baixa carga orgânica nos tanques biológicos.

Neste estudo, o cálculo do Índice Biótico de Lamas (IBL) não se mostrou muito eficaz na avaliação do desempenho da ETAR ou das condições prevaletentes no tanque de arejamento. Os valores de IBL obtidos nem sempre corresponderam ao grau de qualidade do efluente, desvalorizando, assim, o seu uso. No entanto, a contagem de protozoários e o cálculo das densidades apresentou-se como uma valiosa ferramenta na análise do desempenho da ETAR.

## Abstract

This survey was developed at the activated-sludge wastewater treatment plant (WWTP) Gaia Litoral, between April and July of 2012, and its main goal was the analysis of microbiology communities (protozoa and filamentous bacteria) and its association with physical-chemical and operational parameters of the WWTP.

In general, the results related to the community of protozoa and metazoa corroborated those of other studies, concerning to the association of some functional groups with the final effluent quality. Attached and crawling ciliates were the dominant groups of ciliates, and testate amoebae were frequently observed, meaning good purification conditions, therefore effluents with good quality.

The bacterial identification revealed that *Haliscomenobacter hydrossis* (58%), Type 0092 (65%), Type 0041/0675 (100%) and *Nocardia* spp (88%) were the most common organisms, being the latter the dominant in most cases. The main factors associated with the growth of filamentous bacteria were the temperature, Food to Microorganism (F/M) rate, sludge age and Biochemical Oxygen Demand (BOD), Chemical Oxygen Demand (COD) and Total Suspended Solids (TSS) concentration. An increase in the size of the filaments resulted, at times, in the reduction of biomass settling properties, ascertain the loss of sludge through the final effluent. However, in general, these cooperated with biological treatment, and no significant changes were detected in the quality of the final effluent.

From the association of the physical-chemical parameters with the microfauna observed in activated sludge, in addition to the results of statistical analysis, we concluded that the *Opercularia* spp. and ciliate swimmers showed to be resistant to low concentrations of dissolved oxygen, and were present in wastewater with high organic load. Both proved to correlate with the concentration and percentage of COD in the final effluent and may serve as indicators of deteriorating conditions in the aeration tank, then with poor quality of the final effluent in terms of COD. A positive association between *Tetrahymena pyriformis* and the concentration of nitrates in the biological tank was found, suggesting its possible use as an indicator of nitrifying conditions. The appearance of both *Opercularia* spp., and swimming ciliates coincided with the development of filamentous *Nostocoida limicola* II and Type 1863, which is also favored by low dissolved oxygen (DO) concentrations. The correlation coefficients between these two filamentous and nitrate concentration also showed a positive association.



Four of the five species of crawling ciliates showed a significant negative correlation with F/M rate, and the dominance of this group may serve as an indicator of low organic load in the biological tanks.

In this study, the Sludge Biotic Index (SBI) determination did not prove to be very effective. IBL values did not always correspond to the corresponding degree of effluent quality, thus devaluing its use. However, protozoa quantification and densities determination presented as a valuable tool on the analysis of the plant performance.

# Índice

Agradecimentos .....	iii
Sumário .....	vi
Abstract .....	viii
Índice .....	x
Índice de Figuras .....	xiii
Índice de tabelas.....	xv
Lista de Abreviaturas .....	xvii
1. Introdução .....	1
1.1 Enquadramento do trabalho .....	1
1.2 Objetivos do trabalho .....	2
1.3 Metodologia e Organização da dissertação .....	3
2. Revisão bibliográfica .....	5
2.1 Águas residuais.....	5
2.1.1 Processos de tratamento das AR .....	6
2.1.2 Tratamento biológico .....	7
2.2 Processo de Lamas Ativadas .....	8
2.2.1 Microfauna .....	10
2.2.1.1 Bactérias.....	10
2.2.1.2 Protozoários .....	14
2.2.1.3 Rotíferos e Nemátodes .....	18
2.2.2 Problemas relacionados com a sedimentação das lamas.....	18
2.2.2.1 “Pinpoint-Floc”.....	19
2.2.2.2 “Bulking” .....	19
2.2.2.3 “Foaming” .....	20
2.2.3 Avaliação do desempenho da ETAR .....	21
2.2.3.1 Métodos de Análise .....	24
2.2.3.1.1 Análises microscópicas.....	24
2.2.3.1.2 Métodos moleculares .....	25
2.2.3.2 Índice Biótico de Lamas (IBL) .....	26
2.2.3.3 Bactérias filamentosas como organismos indicadores .....	27
3. Materiais e Métodos .....	28
3.1 Caracterização da ETAR de Gaia Litoral .....	28

3.2 Análise de protozoários .....	33
3.2.1 Recolha e acondicionamento das amostras .....	33
3.2.2. IBL.....	34
3.2.2.1. Grupos dominantes.....	34
3.2.2.2 Determinação do IBL .....	38
3.2.2.2.1 “Screening”.....	40
3.2.2.2.2 Contagem.....	40
3.2.2.2.3 Contagem de pequenos flagelados .....	41
3.3 Análise de filamentosas .....	42
3.3.1 Recolha e acondicionamento das amostras .....	42
3.3.2 Identificação das filamentosas .....	42
3.3.2.1 Observação a fresco.....	44
3.3.2.2 Métodos de coloração .....	44
3.4 Parâmetros físico-químicos e dados operacionais.....	45
3.5 Tratamento dos dados .....	47
4. Resultados e Discussão.....	49
4.1 Caracterização físico-química do afluente, efluente e licor misto .....	49
4.2 Caracterização da comunidade de protozoários e pequenos metazoários na ETAR de Gaia Litoral .....	54
4.2.2 Abundância média das espécies de protozoários e de pequenos metazoários .....	57
4.2.3 Abundância relativa das espécies de protozoários observados nas lamas ativadas.....	58
4.2.4 Evolução do IBL.....	61
4.3 Caracterização da comunidade de bactérias filamentosas nas ETAR de Gaia Litoral.....	63
4.3.1 Bactérias filamentosas observadas ao longo do estudo.....	65
4.3.2 Causas do crescimento filamentoso na ETAR de Gaia Litoral .....	67
4.4 Correlações entre os dados das comunidades biológicas e os parâmetros físico- químicos e operacionais na ETAR de Gaia Litoral .....	69
4.4.1 Protozoários .....	69
4.4.1.1 IBL .....	77
4.4.2 Bactérias filamentosas.....	78
5. Conclusões .....	82
7. Anexos.....	93



# Índice de Figuras

Figura 1 – Relação existente entre a taxa de metabolismo dos microrganismos do tanque de arejamento e a taxa A/M .....	12
Figura 2 - Rede trófica que se desenvolve nas lamas ativadas.....	17
Figura 3 – Mapa de Gaia, com a localização da ETAR de Gaia Litoral e respetiva zona de cobertura, exutor e emissário e interceptor principal.....	29
Figura 4 - Esquema de tratamento da ETAR de Gaia Litoral.....	33
Figura 5 - Esquema representativo do procedimento de contagem da microfauna, seguindo a direção A-B, no percurso da inspeção da lamela.....	41
Figura 6 – Evolução da concentração de SST, CBO <sub>5</sub> e CQO no efluente final em função do tempo.....	50
Figura 7 – Relação entre a concentração de N-NH <sub>4</sub> e a idade de lamas e CBO <sub>5</sub> . a) Evolução da concentração de N-NH <sub>4</sub> e da idade de lamas como o tempo; b) Evolução da concentração de N-NH <sub>4</sub> e CBO <sub>5</sub> como o tempo.....	51
Figura 8 – Relação entre CBO e CQO em função do tempo.....	52
Figura 9 – Razão A/M em função do tempo. As linhas a tracejado representam a gama de valores de diferentes sistemas de lamas ativadas: --- sistema convencional de lamas ativadas; --- arejamento prolongado.....	53
Figura 10 – Evolução dos grupos de protozoários em função do tempo. A- Amibas com teca; MF: móveis de fundo; S – Sésseis; N – Nadadores.....	55
Figura 11 – Evolução da densidade relativa do grupo dos grandes flagelados e amibas com teca, encontrados nas lamas ativadas, e dos valores da taxa A/M, em função do tempo.....	55
Figura 12 – Evolução da densidade relativa das espécies de ciliados sésseis e dos grupos funcionais de ciliados nadadores e móveis de fundo, encontrados nas lamas ativadas, em função do tempo.....	59
Figura 13 – Alguns protozoários identificados nas amostras de lamas ativadas ao longo do estudo. a) <i>Acineria uncicata</i> (móvel de fundo); b) <i>Drepanomonas revoluta</i> (Móvel de fundo); c) <i>Aspidisca lynceus</i> (móvel de fundo); d) <i>Arcella</i> sp. (amiba com teca); e) <i>Tokophrya</i> sp. (ciliado carnívoro); f) <i>Podophrya</i> sp. (ciliado carnívoro). Ampliação 200x, campo claro.....	60
Figura 14 – Alguns protozoários ciliados sésseis identificados nas amostras de lamas ativadas ao longo do estudo. a) <i>Vorticella aquadulcis</i> ; b) <i>Vorticella convallaria</i> ; c) <i>Epistylis</i> sp. Ampliação 200x, campo claro.....	61

Figura 15 - Análise do IBL determinado para cada amostra analisada ao longo do estudo.....62

Figura 16 – Algumas das bactérias filamentosas encontradas nas lamas ativadas da ETAR de Gaia Litoral durante o estudo. a) Tipo 0914; b) Tipo 0041/0675; c) *Nocardia* sp.; d) *Nostocoida limicola* III; e) *Thiotrix* I.....64

Figura 17 - Evolução das bactérias filamentosas encontradas em dominância em pelo menos uma amostra ao longo do tempo.....66

## Índice de tabelas

Tabela 1 - Lista dos protozoários mais frequentes nas lamas ativadas e respetivos grupos tróficos.....	16
Tabela 2 – Situações particulares do funcionamento de estações de tratamento biológico de águas residuais por lamas ativadas.....	23
Tabela 3 - Organismos filamentosos dominantes indicadores de problemas operacionais das Lamas Ativadas.....	27
Tabela 4 – Condições de afluência quantitativas das águas residuais brutas.....	30
Tabela 5 – Principais órgãos do sistema de tratamento da ETAR de Gaia Litoral.....	30
Tabela 6 – Tabela de duas entradas para o cálculo do IBL com base nos grupos, densidade, e número de unidades taxonómicas da microfauna (S - nº de espécies da microfauna, excluindo os flagelados e F - nº pequenos flagelados na diagonal da Câmara de Fuchs-Rosenthal).....	39
Tabela 7 – Conversão do valor IBL em 4 classes de qualidade biológica de lamas e respetivas avaliações.....	39
Tabela 8 – Classificação e descrição da abundância geral das bactérias filamentosas.....	43
Tabela 9 – parâmetros físico-químicos respetivos métodos de análise e locais de amostragem, e dados operacionais necessários neste estudo.....	47
Tabela 10 – Médias, desvios-padrão ( $\sigma$ ), máximos e mínimos do pH, SST (mg/l), SSV (mg/l), N-NO <sub>3</sub> (mg/l), NH <sub>4</sub> (mg/l), N total (mg/l), P total (mg/l), CQO (mg/l) e CBO <sub>5</sub> (mg/l) do tanque de arejamento 2.....	49
Tabela 11 – Médias, desvios-padrão ( $\sigma$ ), máximos e mínimos da Taxa A/M (Kg CBO <sub>5</sub> /Kg SSV/d, TRH (dias), idade das lamas (dias), caudal de entrada (m <sup>3</sup> ), IVL e OD (mg/l) do tanque de arejamento 2.....	53
Tabela 12 – Abundância média e máxima e frequência das espécies observadas nas lamas ativadas ao longo do estudo.....	57
Tabela 13 – Média, máximo e mínimo das categorias e frequência dos organismos filamentosos encontrados nos tanques de arejamento.....	65
Tabela 14 – Bactérias filamentosas observadas em cada fase de amostragens.....	68
Tabela 15 - Coeficientes de correlação entre a densidade total das espécies de protozoários e pequenos metazoários os parâmetros físico-químicos e operacionais da ETAR de Gaia Litoral.....	70

Tabela 16 - Coeficientes de correlação entre a densidade relativa das espécies de protozoários e pequenos metazoários os parâmetros físico-químicos e operacionais da ETAR de Gaia Litoral.....71

Tabela 17 - Coeficientes de correlação entre a densidade total das espécies de protozoários e pequenos metazoários com as eficiências de remoção de CBO<sub>5</sub>, CQO, SST e nutrientes (N total, PO<sub>4</sub>) e entre a densidade relativa das espécies de protozoários e pequenos metazoários com a concentração N-NH<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>-N.....72

Tabela 18 - Coeficientes de correlação entre o IBL e a eficiência de remoção de CBO<sub>5</sub>, o número de pequenos flagelados e densidade relativa e total dos grupos funcionais de protozoários e das espécies *Opercularia* sp. e *Vorticella microstoma*.....77

Tabela 19 - Coeficientes de correlação entre a abundância das bactérias filamentosas e os parâmetros físico-químicos e operacionais.....78



## Lista de Abreviaturas

A/M: Razão Alimento/Microrganismo  
AR: Águas Residuais  
BOD: Biochemical Oxygen Demand  
CBO: Carência Bioquímica de Oxigénio  
CBO<sub>5</sub>: Carência Bioquímica de Oxigénio ao fim de 5 dias  
CQO: Carência Química de Oxigénio  
COD: Chemical Oxygen Demand  
DO: Dissolved Oxygen  
COV: Compostos Orgânicos Voláteis  
ETAR: Estação de Tratamento de Águas Residuais  
F/M: Food to Microorganisms rate  
IBL: Índice Biótico de Lamas  
IVL: Índice Volumétrico de Lamas  
G.F: Grandes Flagelados  
MF: Móveis de Fundo  
MLSS: Mixed Liquor Suspended Solids  
MO: Matéria Orgânica  
OD: Oxigénio Dissolvido  
PAO: Phosphorus Accumulating Organisms  
P.F: Pequenos Flagelados  
Qe: Quantity of wastewater Effluent  
Qw: Quantity of Wasted Sludge  
SBI: Sludge Biotic Index  
SS: Sólidos Suspensos  
SSe: Suspended Solids in wastewater effluent  
SST: Sólidos Suspensos Totais  
SSV: Sólidos Suspensos Voláteis  
SV: Sólidos Voláteis  
SSw: Suspended Solids in wasted sludge  
s/v: Razão superfície/volume  
TRH: Tempo de Retenção Hidráulico



# 1. Introdução

## 1.1 Enquadramento do trabalho

A água, como bem essencial para a vida na Terra, é necessária na sua forma não poluída e assim deve permanecer, de modo a não perder o seu valor económico e estético, e de forma a não se tornar uma ameaça para a saúde humana nem para a sobrevivência dos organismos que nela vivem e todos os seres vivos que destes dependem.

A água que as pessoas usam, diariamente, nas suas casas e nas indústrias, provém de lagos, rios ou do subsolo (água subterrânea), e após utilização, esta retorna a esses locais, muitas vezes contaminada. A esta água usada designa-se água residual (AR) e contém, geralmente, elevada carga orgânica, nutrientes, agentes patogénicos, químicos inorgânicos, sedimentos e minerais, podendo ainda, conter compostos tóxicos. Daí a necessidade de tratamento, de modo a evitar a contaminação dos locais de descarga <sup>[1]</sup>.

O sistema de Lamas Ativadas é um dos processos de tratamento biológico das águas residuais e é um dos mais frequentes processos de tratamento de águas residuais em todo o mundo. Este tem como princípio básico a manutenção de uma elevada concentração de microrganismos num reator artificialmente arejado, onde a matéria orgânica (MO) irá ser degradada por uma comunidade bacteriana <sup>[2]</sup>. Para a formação de lamas é essencial a existência de flocos, sendo estes constituídos, maioritariamente, por bactérias gram-negativas e organismos filamentosos. Estes últimos ajudam na formação dos flocos, mas quando presentes em quantidades excessivas, podem causar problemas no funcionamento das Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR), uma vez que são responsáveis por fenómenos como o *bulking* e o *foaming*. Daí a importância da identificação e monitorização destes organismos nas lamas ativadas <sup>[2]</sup>.

As Lamas Ativadas são compostas por diversos microrganismos, incluindo vírus, bactérias, protozoários, fungos e metazoários, que têm sido, recentemente, utilizados para avaliação das condições operacionais das instalações das ETAR. Os protozoários ciliados são muito abundantes em todos os processos de tratamento aeróbios, alimentando-se de bactérias que entram, continuamente, no sistema, daí que tenha sido observado que estes melhoram a qualidade do efluente. Para além

disso, estes microrganismos auxiliam no processo de floculação, através da secreção de substâncias mucilaginosas com propriedades floculantes <sup>[3]</sup>.

Os protozoários são sensíveis a alterações ambientais, relativamente à qualidade do efluente ou condições de operação, sendo que impactos a este nível se traduzem numa alteração da estrutura da sua comunidade, podendo assim afetar o desempenho da ETAR <sup>[4]</sup>. Por outro lado, esta sua sensibilidade aos fatores ambientais torna-os indicadores biológicos ideais destes sistemas.

Através da combinação de experimentações físico-químicas com técnicas de análise biológicas, podem-se obter informações acerca da eficiência e desempenho do sistema de Lamas Ativadas, uma vez que a estrutura da comunidade biológica, em termos de grupos funcionais ou de espécies, é representativa das condições de funcionamento da ETAR, sobretudo no que ao Tanque de Arejamento diz respeito. Sendo assim, a estrutura da microfauna é um instrumento válido de diagnóstico, pois a presença ou desaparecimento de determinadas espécies pode ser considerado um bom indicador da eficácia do sistema de lamas ativadas, em termos de purificação das águas. Portanto, a análise da microfauna enriquece os parâmetros que são, geralmente, utilizados para avaliar a eficiência biológica das ETAR <sup>[3]</sup>.

Na análise da microfauna das Lamas Ativadas, um dos índices que pode ser utilizado é o Índice Biótico de Lamas (IBL). Este, concebido por Madoni em 1994, é baseado na abundância e diversidade da comunidade de protozoários presentes no tanque de arejamento do sistema de Lamas Ativadas e na diferença de sensibilidades reveladas, por alguns grupos da microfauna, a fatores operacionais e físico-químicos prevaletentes no sistema <sup>[5]</sup>.

## 1.2 Objetivos do trabalho

O trabalho aqui proposto consistirá no estudo das comunidades microbiológicas da ETAR de Gaia Litoral e na sua relação com os fatores físico-químicos prevaletentes, além dos parâmetros de operação e de desempenho da ETAR, podendo assim, servir como uma ferramenta de apoio à sua operação no futuro. Isto implica a necessidade de identificação dos protozoários e bactérias filamentosas presentes no licor misto através da observação de amostras ao microscópio e a correlação destes dados com os dados de operação e de avaliação do desempenho. Estes últimos incluem os parâmetros físico-químicos e de operação da ETAR para se fazer um estudo estatístico e saber-se quais os melhores indicadores

da eficiência da ETAR, os melhores indicadores de situações problemáticas, qual o papel da diversidade bacteriana no desempenho, etc.

Este estudo poderá permitir, além de um melhor conhecimento do modo como estas comunidades se estabelecem na ETAR, um melhor domínio da própria microbiologia na ETAR em causa.

### 1.3 Metodologia e Organização da dissertação

Para a realização deste trabalho foi feita uma pesquisa bibliográfica ao longo do desenvolvimento do mesmo, sendo que a metodologia adotada passou pela recolha de amostras na ETAR de Gaia Litoral, na análise microscópica da microbiologia presente nas lamas ativadas (protozoários e bactérias filamentosas), no estudo dos parâmetros físico-químicos (pH, SST, SSV, nitratos, amónia, azoto total, fósforo total, IVL, CBO<sub>5</sub>, CQO), e cálculo das taxas de remoção, da taxa Alimento/Microrganismo (A/M), e da idade das lamas. Efetuou-se o tratamento dos resultados, incluindo a determinação de correlações entre a microfauna observada e os parâmetros físico-químicos e operacionais, e, por fim, procedeu-se à escrita da dissertação.

Este trabalho está organizado em 7 capítulos, correspondendo o primeiro ao enquadramento do trabalho, para além de serem indicados os principais objetivos da dissertação e a metodologia seguida para o desenvolvimento da mesma, assim como, a forma como esta está estruturada.

O segundo capítulo contém os conceitos teóricos relacionados com o tema da dissertação, desde a referência às águas residuais, aos tipos de tratamento e a sua importância, passando pela apresentação e descrição do processo de Lamas Ativadas e dos microrganismos aí envolvidos. São ainda mencionados os problemas relacionados com a sedimentação das lamas, o modo de avaliação do desempenho da ETAR e os métodos de amostragem. É referido o índice IBL e o método de análise de filamentosas. Por fim, é feita uma caracterização da ETAR de Gaia Litoral.

No terceiro capítulo são referidos os materiais e métodos usados na elaboração deste trabalho.

O quarto capítulo consiste na apresentação, análise e discussão dos resultados obtidos, para avaliação do desempenho da ETAR em estudo. Em primeiro lugar são expostos os dados físico-químicos fornecidos, de forma a avaliar a evolução das águas residuais com o tempo, passando para a análise da microfauna observada. Desde a densidade e frequência de espécies de protozoários, valores de IBL, passando pela dominância e causas do crescimento de filamentosas. Por fim, são apresentados os valores das correlações obtidos entre os parâmetros físico-químicos e biológicos.

No quinto capítulo são apresentadas as conclusões gerais acerca da eficiência da ETAR de Gaia Litoral através da análise biológica.

Por fim, é apresentada a lista de referências e os anexos a que se faz referência ao longo da tese.

## 2. Revisão bibliográfica

### 2.1 Águas residuais

Tem-se vindo a verificar uma contínua deterioração da qualidade da água, como consequência do aumento continuado da população nas zonas urbanas, contaminação das águas superficiais e subterrâneas, desigual distribuição dos recursos hídricos, e ocorrência de secas frequentes, causadas por condições meteorológicas globais extremas. No entanto, é necessário que água limpa e suficiente esteja disponível, para assegurar a existência do Homem e das indústrias [6,7].

Foi visível, no século XX, um grande desenvolvimento no tratamento das águas residuais, em parte devido ao aumento, nos últimos anos, da exigência dos requerimentos legislativos, relativamente à qualidade das águas residuais descarregadas no meio ambiente [8,9]. Estas são águas resultantes após utilização, para diversos fins, em casas, estabelecimentos comerciais, indústrias, instituições públicas e entidades semelhantes, e contêm uma grande quantidade de sólidos suspensos e substâncias dissolvidas, que não estavam, inicialmente, presentes [10,11]. Os principais contaminantes encontrados são os compostos orgânicos biodegradáveis, compostos orgânicos voláteis (COVs), xenobióticos recalcitrantes, metais tóxicos, sólidos suspensos, nutrientes (fósforo e azoto), patogénicos microbianos e parasitas [2].

Consoante a sua origem, as águas residuais podem ser consideradas:

- Águas residuais domésticas – provenientes de instalações residuais e serviços, resultantes de atividades domésticas e metabolismo humano;
- Águas residuais industriais – provenientes de qualquer atividade industrial.
- Águas residuais urbanas – designação atribuída à mistura das águas residuais municipais com águas residuais industriais [2,8,9].

As águas residuais não tratadas podem causar danos no ambiente e na saúde dos seres humanos, pelo que estas devem ser tratadas de modo a reduzir as doenças transmissíveis pela água, a poluição do meio aquático, e o dano consequente na biota aquática. Sendo assim, os principais objetivos do tratamento das águas residuais consistem na redução da matéria orgânica (redução da carência bioquímica de

oxigénio (CBO)), remoção/redução dos compostos orgânicos residuais que são resistentes à biodegradação e podem ser tóxicos ou carcinogénicos, remoção/redução de metais tóxicos, remoção/redução de nutrientes (azoto e fósforo) de modo a evitar a poluição do meio recetor da descarga ou águas subterrâneas, caso os efluentes sejam aplicados nos solos e, ainda, remoção ou inativação de microrganismos patogénicos e parasitas. <sup>[2,10]</sup>

Processos físicos, químicos ou biológicos são, assim, necessários para minimizar os potenciais impactos das descargas de águas residuais no meio ambiente. <sup>[11]</sup>

### 2.1.1 Processos de tratamento das AR

O tratamento de águas residuais pode, em geral, ser conseguido por aplicação de diferentes operações e processos unitários, que irão variar de acordo com as características dos efluentes a tratar, com o destino a dar aos efluentes tratados, com os requerimentos de qualidade de água associados a esse e com os custos e eficácia dos processos de tratamento.

Nas operações unitárias predominam as forças físicas, sendo exemplo daquelas operações a gradagem, a sedimentação, a filtração e a flotação. No caso dos processos unitários, os contaminantes são removidos através de reações químicas (adsorção, precipitação, coagulação, etc.) e biológicas (baseadas na atividade microbiana). <sup>[2,11,12]</sup>

Geralmente, agrupam-se as operações e processos unitários em 4 níveis de tratamento, sendo estes:

- Tratamento preliminar, que tem como principal objetivo a remoção dos sólidos mais grosseiros, gorduras e areias, de modo a evitar danos nos equipamentos da ETAR. Nesta fase, o efluente é preparado para o tratamento subsequente <sup>[1,13]</sup>.
- Tratamento primário, através de processos físicos (operações unitárias), como a sedimentação e flotação, projetado para remover sólidos orgânicos e inorgânicos. Aproximadamente 25-50% da CQO (carência química de oxigénio), 50-70% dos sólidos totais suspensos (SST) e 65% de óleos e gorduras são removidos nesta fase.
- Tratamento secundário, onde processos unitários químicos (como a desinfecção) e/ou biológicos (como por exemplo, lamas ativadas, filtros percoladores, lagoas de oxidação) são aplicados. Geralmente ocorre, também nesta fase, a remoção de nutrientes. A oxidação da matéria



orgânica dissolvida é efetuada através do uso de microrganismos num ambiente controlado.

- Tratamento terciário ou avançado, em que se usa combinações adicionais de operações e processos unitários, de forma a eliminar constituintes residuais presentes nos efluentes secundários, como nutrientes, patogénicos e parasitas e, por vezes, substâncias tóxicas <sup>[1,2]</sup>.

### 2.1.2 Tratamento biológico

O tratamento biológico, de certa forma, mimetiza alguns dos processos naturais de auto purificação dos corpos de água, principalmente a degradação da matéria orgânica e conversão de azoto, através da ação bacteriana, podendo ser efetuado por organismos suspensos ou aderidos, criando-se, assim, dois principais tipos de tratamento biológico:

- Processos de biomassa suspensa (como por exemplo, as Lamas Ativadas), no qual os microrganismos responsáveis pela conversão da matéria orgânica e outros constituintes presentes nas AR, em gases ou tecidos celulares, são mantidos em suspensão no reator, juntamente com o efluente, através de um sistema de mistura natural ou mecânico;
- Processos de biomassa fixa ou biofilme (como os leitos percoladores), em que os microrganismos se encontram aderidos a um meio inerte, como rochas, escória ou materiais de plástico e cerâmica, especialmente designados para esse fim <sup>[14,15]</sup>.

Os processos biológicos podem ser controlados sob condições:

- aeróbias - presença de oxigénio dissolvido, em que este irá funcionar como aceitador terminal de eletrões, como acontece nos leitos percoladores, sistema de Lamas Ativadas e lagoas arejadas;
- anaeróbias - ausência de oxigénio, sendo outros compostos, como os nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) e sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), os aceitadores terminais de eletrões, operando-se sob estas condições nas lagoas anaeróbias e digestão anaeróbia;
- anóxicas, nas situações que requerem a ocorrência de desnitrificação ou remoção de fósforo.

É preferível operar sob condições aeróbias, uma vez que não há produção de maus cheiros e gases, como acontece na ausência de oxigénio, para além de que as bactérias aeróbias são 3 vezes mais ativas do que as bactérias anaeróbias a 30°C <sup>[15,16]</sup>.

Os processos biológicos numa ETAR são efetuados recorrendo-se a um grupo diversificado de microrganismos, podendo ser divididos em bactérias, fungos, algas, protozoários, rotíferos e plantas <sup>[17]</sup>.

Estes são uma forma de tratamento secundário, efetuados, geralmente, após tratamento primário, no qual o material coloidal e dissolvido vai ser removido, convertendo-se este em biomassa bacteriana <sup>[11,18]</sup>.

Diversas condições deverão ser cumpridas para que os processos de tratamento biológicos sejam efetuados com sucesso, como o tipo e concentração da matéria orgânica, o aceitador de eletrões, tipo de mistura, temperatura, nutrientes essenciais e ausência de compostos inibidores e tóxicos.

Os sistemas de tratamento biológico de águas residuais podem ser efetuados segundo diversos métodos, sendo as Lamas ativadas um dos processos mais aplicados em todo o mundo <sup>[2]</sup>. Como alternativa a este processo de tratamento, existem os leitos percoladores, biodiscos, digestão anaeróbia, e o uso de lagoas.

## 2.2 Processo de Lamas Ativadas

O processo de lamas ativadas foi desenvolvido por Ardern e Lockett em 1914, em Manchester sendo, atualmente, aplicado em várias estações de tratamento de águas residuais em todo o mundo. No entanto, hoje em dia, são usadas diversas variações do processo de Lamas Ativadas original, diferindo estas, principalmente, no tipo de fluxo do sistema, de arejamento, e nos tipos de sistemas de arejamento (sistemas por ar difuso, arejamento mecânico, arejamento com oxigénio puro) <sup>[2]</sup>.

Este processo tem sido largamente aplicado para tratar tanto águas residuais domésticas como águas residuais industriais, e consiste na manutenção de uma elevada concentração de uma cultura mista de microrganismos num reator artificialmente arejado (tanque de arejamento). O conteúdo do reator, designado por licor misto, é constituído por água residual, microrganismos (vivos, assim como mortos), e material coloidal e suspenso inerte, biodegradável e não biodegradável. A fração particulada do licor misto é designada por sólidos suspensos no licor misto ("mixed liquor suspended solids" - MLSS) <sup>[2,13]</sup>. As lamas ativadas podem ser compostas por diferentes tipos de microrganismos, incluindo vírus, bactérias, protozoários, metazoários e fungos <sup>[3,19]</sup>.

Um sistema de Lamas Ativadas é composto por:

- Um ou vários reatores, designados por tanques de arejamento;
- Lamas ativadas;
- Sistema de arejamento (mantém o processo aeróbio);

- Tanque de sedimentação (separa a biomassa do efluente tratado);
- Sistema de recirculação de lamas (recolha dos sólidos no tanque de sedimentação e reinoculação do reator) <sup>[13]</sup>.

O sistema de Lamas ativadas permite converter a maior parte da matéria orgânica solúvel e coloidal, que permanece após o tratamento primário, em formas inorgânicas estáveis e massa celular, pois estas vão ser metabolizadas por um diverso grupo de microrganismos. Forma-se, assim, dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e água, para além de uma parte ser convertida em massa celular, que pode, posteriormente, ser removida do efluente por sedimentação <sup>[20]</sup>.

Inicialmente, no tanque de arejamento, vai ocorrer a degradação da matéria orgânica, em que o carbono orgânico, azoto e fósforo dissolvidos vão ser convertidos em biomassa, sendo assim removidos da água através da ação bacteriana. A maioria das bactérias tem a capacidade de formar flocos, sendo estes um conjunto de bactérias, metabolicamente ativas e não ativas, e outros microrganismos agregados, para além de partículas orgânicas e inorgânicas, formando uma estrutura heterogénea complexa, embebidos numa matriz polimérica ou de gel <sup>[18, 22]</sup>. Graças a este fenómeno, após um determinado período de tempo, a biomassa formada no reator pode ser separada do efluente tratado, através da força da gravidade, depositando-se, assim, nos tanques de sedimentação, permitindo a separação sólidos-líquido <sup>[8]</sup>. No entanto, a floculação não ocorre até ao esgotamento da matéria orgânica pelos microrganismos ou até à fase de crescimento endógena, a partir do qual vai haver acumulação de exopolímeros celulares à superfície das células, favorecendo a sua agregação. Formam-se, assim, matrizes tridimensionais, como resultado de ligações físicas e electrostáticas desses polímeros <sup>[21]</sup>.

Por fim, uma parte da biomassa vai ser reciclada, retornando ao tanque de arejamento, mantendo-se, deste modo, uma população estável de microrganismos <sup>[18]</sup>.

Portanto, os flocos são as unidades funcionais e operativas destes sistemas, podendo apresentar diferentes tamanhos e composição, dependendo das condições ambientais. Os flocos com dimensões inadequadas, estrutura frágil, desagregados ou com aspeto filamentoso não sedimentam adequadamente, podendo causar inconvenientes na clarificação de efluentes, prejudicando a eficácia do processo depurativo <sup>[21,22]</sup>.

Para uma melhor compreensão e controlo do tratamento das águas residuais, é essencial o conhecimento da estrutura da comunidade microbiana dos microrganismos usados nos processos de tratamento <sup>[23]</sup>.

### 2.2.1 Microfauna

As Lamas Ativadas são compostas por uma comunidade complexa de microrganismos, maioritariamente bactérias (as principais responsáveis pelo processo depurativo), mas também por protozoários (flagelados, ciliados e sarcodinas) e metazoários (rotíferos, nemátodes, oligoquetas, etc.)<sup>[24,25]</sup>.

Os microrganismos podem ser estritamente aeróbios (apenas se desenvolvem na presença de oxigénio, usando-o como oxidante), anaeróbios (sensíveis à presença de oxigénio, usando outros compostos para a realização da oxidação química) ou anaeróbicos facultativos (podem crescer tanto na presença como na ausência de oxigénio)<sup>[26]</sup>.

Num passado distante existiam apenas dois reinos para classificação dos organismos vivos, o das Plantas e o dos Animais, estando os microrganismos distribuídos por ambos. No entanto, os biólogos adotaram, posteriormente, uma divisão mais prática, colocando os microrganismos em reinos separados, sendo estes o Reino Monera (organismos mais simples, como as bactérias, cianobactérias e Archaea) e o Reino Protista (incluídos neste, as algas, fungos e protozoários)<sup>[27]</sup>.

#### 2.2.1.1 Bactérias

As bactérias são os principais componentes das águas residuais, com concentrações de  $10^{10} - 10^{12}$  por litro, geralmente com dimensões de 0.5-2  $\mu\text{m}$  nas lamas ativadas, e morfologia celular variável. A sua principal função é a degradação da matéria orgânica dissolvida, para além de contribuírem para a degradação da matéria orgânica em suspensão, através da produção de enzimas extracelulares (exoenzimas)<sup>[15,24]</sup>.

As bactérias reproduzem-se por divisão binária, e a sua taxa de crescimento (o número de divisões por unidade de tempo) depende de diversos fatores ambientais, tais como, a concentração de oxigénio, no caso das bactérias aeróbias, podendo inibir o seu crescimento se em concentrações reduzidas, a temperatura, fonte de carbono, pH, tipo e concentração de substrato, concentração e disponibilidade de nutrientes essenciais (azoto, fósforo, etc.), pressão osmótica, grau de mistura, etc.<sup>[10,28]</sup>.

Um outro parâmetro que afeta as bactérias é a taxa A/M (alimento/microrganismo), que compara a quantidade de alimento disponível com o número de microrganismos presentes no tanque de arejamento. Se esta taxa for elevada, significa que há uma grande abundância de alimento e um reduzido número

de microrganismos, pelo que as bactérias se encontram ativas e dispersas, reproduzindo-se rapidamente, não formando flocos. Deste modo, o sistema de tratamento por lamas ativadas que operar a taxas A/M elevadas produzirá, em princípio, efluentes túrbidos e lamas de difícil sedimentação. A baixas taxas A/M, o alimento é limitado e o número de microrganismos é elevado. Nestas condições, as bactérias perdem a sua mobilidade e começam a aglomerar-se para formar os flocos [29].

Na presença de um substrato orgânico, as bactérias exibem, tipicamente, 4 fases de desenvolvimento distintas (Figura 1), sendo estas:

1. Fase lag – Durante esta fase o número de células mantém-se. No entanto, as bactérias permanecem internamente ativas sintetizando, caso seja necessário, catalisadores intracelulares (“enzimas”), para que a oxidação da matéria orgânica possa ocorrer. Pequeno aumento da biomassa e pouco substrato consumido.
2. Fase de crescimento decrescente – Fase durante a qual as bactérias crescem exponencialmente, adquirindo reservas de alimentos, as quais podem utilizar na ausência ou escassez de alimento. Grande aumento da biomassa, consumindo a maior parte do substrato disponível.
3. Fase estacionária – Exaustão de nutrientes ou acumulação de produtos tóxicos, levando a uma redução do crescimento bacteriano. A concentração da biomassa mantém-se constante, o que traduz um equilíbrio entre a divisão e a morte celular, ou a população para de se dividir, embora se mantenha metabolicamente ativa.
4. Fase declínio – A taxa de mortalidade excede a taxa de crescimento. Consumo das reservas de carbono e de energia, predação e lise celular [10,11].

A fase de crescimento em que as bactérias se encontram nas diferentes ETAR irá depender das condições de funcionamento destas, sendo que, por exemplo, em ETAR com alta carga orgânica, as bactérias encontrar-se-ão, provavelmente, na fase exponencial [11].

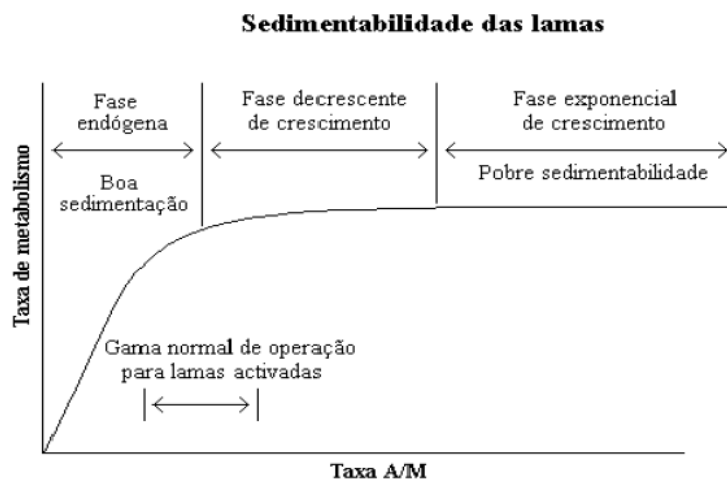


Fig. 1 – Relação existente entre a taxa de metabolismo dos microrganismos do tanque de arejamento e a taxa A/M [30]

A degradação da matéria orgânica é afetada pelo seu uso, como alimento, pelos microrganismos, de modo a produzir protoplasma para as novas células durante o processo de crescimento. As bactérias oxidam os resíduos de forma a obter energia suficiente que lhes permita sintetizar moléculas complexas, como proteínas e polissacarídeos, necessários para produzir novas células. Portanto, o metabolismo bacteriano tem duas componentes: catabolismo (“quebra”) para obter energia e anabolismo (“construção”) para síntese. Sendo assim, as reações metabólicas que ocorrem durante os processos de tratamento biológicos podem ser divididas em 3 fases:

- Oxidação
- Biossíntese
- Respiração endógena <sup>[10, 28]</sup>

Estas reações podem ser descritas por:

1.  $\text{COHNS (MO)} + \text{O}_2 + \text{Bactéria} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_3 + \text{Bactéria} + \text{energia}$  <sup>[10,15]</sup>
2.  $\text{COHNS} + \text{NH}_3 + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_2$  (novas células)
3.  $\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_2 + 5\text{O}_2 \rightarrow 5\text{CO}_2 + \text{NH}_3 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{Energia}$  <sup>[28]</sup>

As bactérias aeróbias utilizam o oxigénio livre como aceitador de eletrões, convertendo a MO em compostos simples e inertes, sendo os produtos finais da atividade aeróbia o  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{NO}_3^-$  e novas bactérias. Como resultado, as bactérias tendem a crescer e a reproduzir-se, gerando mais microrganismos

bacterianos, enquanto existir alimento disponível (matéria orgânica) e oxigénio no reator <sup>[15,31]</sup>.

Nas lamas ativadas podem existir bactérias dispersas na coluna de água, bactérias formadoras de flocos, e ainda, bactérias filamentosas, sendo o equilíbrio entre estas últimas duas importante para uma boa sedimentação dos flocos <sup>[32]</sup>.

Como já foi dito, um grande número de bactérias, como *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Zooglea*, entre muitas outras, são responsáveis pela formação de flocos, sendo estes essenciais para a constituição das lamas. A maioria das bactérias formadoras de flocos são Gram-negativas <sup>[29,33]</sup>.

No início do tratamento, poucas lamas estão formadas, uma vez que as bactérias são dotadas de mobilidade e estão dispersas. À medida que as lamas começam a envelhecer, pequenas cadeias e aglomerados de bactérias vão-se ligando, formando flocos, até que estes têm dimensões suficientes para sedimentarem, e por sua vez, com o aumento da idade dos flocos, as bactérias nitrificantes estabelecem-se à superfície destes, devido à acumulação de iões químicos, incluindo a amónia <sup>[33]</sup>. No entanto, existe muitas vezes um elevado número de bactérias dispersas, devido à incapacidade destas em formar flocos, como resultado de elevada CBO, oxigénio dissolvido (OD) limitante ou toxicidade, pelo que o efluente final apresenta-se turbido <sup>[32]</sup>.

Para além das bactérias formadoras de flocos, existem ainda as bactérias filamentosas, sendo importante monitorizar a sua presença nos sistemas de lamas ativadas, uma vez que estas, caso haja um crescimento excessivo, podem interferir com a sedimentação das lamas, fenómeno este designado por “*bulking*”. No entanto, estas desempenham um papel importante no fornecimento de uma matriz para a formação dos flocos, funcionando como um esqueleto sobre o qual os flocos crescem <sup>[24,34,35]</sup>. As bactérias filamentosas são organismos unicelulares, no entanto, após reprodução por cissiparidade, as células-filhas mantêm-se próximas umas das outras, formando cadeias ou filamentos <sup>[32]</sup>.

Já foram identificados membros do filo *Bacteroidetes* nos sistemas de Lamas Ativadas, tendo sido isolada e caracterizada a espécie *Haliscomenobacter hydrossis*, verificando-se que esta é responsável por fenómenos de “foaming” e “bulking”. Esta bactéria filamentosa foi detetada mundialmente em amostras de lamas ativadas, devido à facilidade de reconhecimento através da sua morfologia: filamento comprido

e rígido, entre 10-200µm, de diâmetro entre 0.3-0.5 µm, que se estende desde a superfície dos flocos (forma em agulha) e coloração Gram-negativa <sup>[34]</sup>.

As bactérias filamentosas apresentam características fisiológicas e ecológicas bem definidas, muitas utilizando uma reduzida gama de grupos de substratos, enquanto outras podem servir-se de uma grande variedade. Portanto, o conhecimento da relação da ecofisiologia das bactérias filamentosas com as condições de funcionamento dos processos de tratamento permitirá desenvolver melhores estratégias de controlo e mais eficazes.

### 2.2.1.2 Protozoários

O sucesso dos processos biológicos está dependente, não só, do papel desempenhado pelas bactérias, que são as principais responsáveis pela biodegradação dos resíduos mas, também, das interações ecológicas entre todos os organismos microscópicos existentes nos tanques de arejamento <sup>[35]</sup>.

Os protozoários são organismos eucarióticos, unicelulares, pertencentes ao reino Protista, sem diferenciação celular. No entanto, alguns apresentam uma estrutura relativamente complexa, com regiões diferenciadas no interior da célula, para a realização de diferentes funções. Estes organismos têm dimensões superiores às das bactérias, alimentando-se destas.

Nos processos de tratamento por lamas ativadas os protozoários contribuem para a remoção da matéria orgânica dos efluentes, através da excreção de nutrientes minerais que estimulam a atividade bacteriana, acelerando o uso das fontes de carbono pelas bactérias. No entanto, este não é um dos processos mais importantes nas águas residuais, uma vez que estes efeitos indiretos dos protozoários sobre o crescimento bacteriano não aumentam a mineralização do carbono sob condições limitantes. Sendo assim, a principal função destes microrganismos é a predação de bactérias existentes na fração líquida <sup>[27,36]</sup>.

A maioria dos protozoários que surge nos sistemas de lamas ativadas é ubíqua, tendo já sido identificadas 230 espécies em ETAR's (33 flagelados, 25 de rizopódios, 6 de actinopódios e 160 de ciliados). No entanto, apenas algumas foram observadas frequentemente <sup>[5]</sup>.

Os protozoários podem ser classificados em 3 grupos: sarcodinas, flagelados e ciliados.

- As sarcodinas movem-se por pseudópodes. Neste grupo estão incluídas as amibas, que se alimentam por absorção de alimentos solúveis ou por



fagocitose, predando as bactérias. As que estão, geralmente, presentes nas lamas ativadas podem estar incluídas em três grupos morfológicos distintos: amibas com teca (com concha), amibas nuas (sem concha) ou *Heliozoa* (formas planctónicas)<sup>[2,21]</sup>.

- Os flagelados deslocam-se através de um ou mais flagelos, alimentando-se de matéria orgânica solúvel, por difusão ou transporte ativo. Uma grande parte alimenta-se ativamente de bactérias<sup>[21]</sup>.
- Os ciliados utilizam cílios para locomoção, alimentando-se de bactérias, daí que melhorem a qualidade do efluente, para além de colaborarem no processo de floculação através da secreção de substâncias mucilagénicas com propriedades floculantes. Estes atingem, geralmente, densidades de 10 000 células por litro nas lamas ativadas, o que corresponde a 9% dos sólidos suspensos (SS) no licor misto<sup>[2,3,10]</sup>. Apesar de alguns ciliados serem carnívoros ou omnívoros, a maioria destes microrganismos alimenta-se de populações de bactérias dispersas<sup>[36]</sup>.

Todos os ciliados bacterívoros dependem das correntes ciliadas para se alimentarem, uma vez que estas direcionam as bactérias suspensas na fração líquida para a sua região oral.

Os protozoários ciliados podem, ainda, ser divididos em quatro grupos funcionais de acordo com o seu comportamento, hábitos alimentares e localização física na biomassa:

- Nadadores (“free-swimmers”) – ciliados bacterívoros livres na fração líquida e permanecem em suspensão nos tanques de sedimentação. Podem, por isso, ser facilmente removidos do sistema com o efluente.
- Móveis de fundo (“crawlers”) – ciliados bacterívoros existentes à superfície dos flocos. Alimentam-se de bactérias levemente aderidas ao floco ocupando, assim, um nicho ecológico diferente. Geralmente, a sua abundância diminui na presença de elevada carga orgânica;
- Sésseis (“attached”) – ciliados bacterívoros fixos aos flocos através de pedúnculos, precipitando com estes com o decorrer da sedimentação. Competem com os ciliados nadadores por alimento, sendo ambos predadores de bactérias dispersas na fração líquida;
- Carnívoros – alimentam-se de outros protozoários<sup>[5,14]</sup>.

Na tabela 1 estão indicados os principais ciliados encontrados em sistemas de lamas ativadas. [30]

Tabela 1 - Lista dos protozoários mais frequentes nas lamas ativadas e respetivos grupos tróficos [30]

Carnívoros	Bacteriófagos		
	Nadadores	Móveis de fundo	Sésseis
Olotrichi	<i>Colpoda</i> sp.	<i>Acinergia uncinata</i>	<i>Carchesium</i> spp.
<i>Acinergia incurvata</i>	<i>Colpidium colpoda</i>	<i>Aspidisca cicada</i>	<i>Epistylis</i> spp.
<i>Amphileptus</i> sp.	<i>Colpidium campylum</i>	<i>Aspidisca lynceus</i>	<i>Opercularia coarctata</i>
<i>Coleps hirtus</i> *	<i>Cinetochilum margaritaceum</i>	<i>Chilodonella uncinata</i>	<i>Opercularia microdiscus</i>
<i>Litonotus</i> spp.	<i>Cyclidium glaucoma</i>	<i>Drepanomonas revoluta</i>	<i>Opercularia minima</i>
<i>Spathidium</i> spp	<i>Dextotricha</i> sp.	<i>Euplotes affinis</i>	<i>Stentor</i> spp.
Suttori	<i>Glaucoma scintillans</i>	<i>Euplotes moebiusi</i>	<i>Vaginicola crystallina</i>
<i>Acineta</i> spp.	<i>Loxocephalus</i> sp.	<i>Euplotes patella</i>	<i>Vorticella convallaria</i>
<i>Metacineta</i> sp.	<i>Paramecium</i> spp	<i>Stylonychia</i> spp.	<i>Vorticella microstoma</i>
<i>Podophrya</i> spp.	<i>Pseudocohnilembus pusillus</i>	<i>Trachelophyllum pusillum</i>	<i>Vorticella aquadulcis</i>
<i>Tokophrya</i> spp.	<i>Sathrophilus</i> sp.	<i>Trithigmostoma cucullulus</i>	<i>Zoothamnium</i> spp.
	<i>Spirostomum teres</i>	<i>Trochilia minuta</i>	
	<i>Tetrahymena pyriformis</i>		
	complexo		
	<i>Uronema nigricans</i>		

\*Omnívoros;

Como é possível ver no diagrama simplificado da rede trófica presente num sistema de lamas ativadas, na figura 2, verifica-se que o sistema biológico no tanque de arejamento consiste numa contínua competição entre as diversas populações, por alimento.

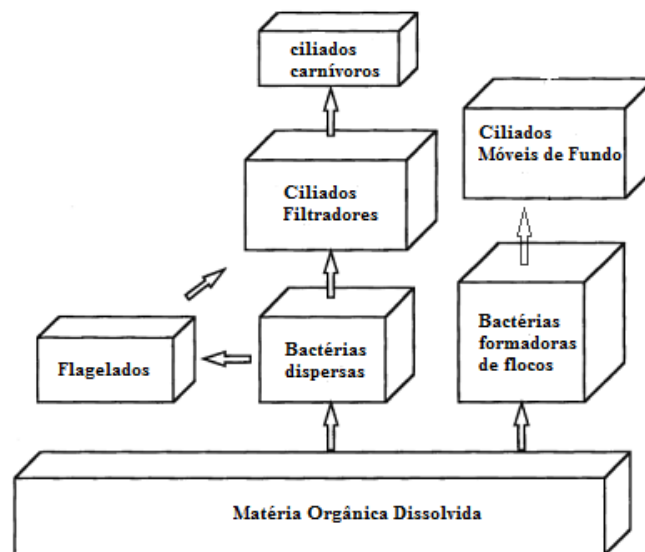


Fig. 2 - Rede trófica que se desenvolve nas lamas ativadas [14]

O desenvolvimento dos decompositores, essencialmente bactérias heterotróficas, está dependente da quantidade e qualidade da matéria orgânica dissolvida disponível no licor misto. Já a existência de predadores está dependente das presas disponíveis. As bactérias dispersas são o alimento dos flagelados heterotróficos e ciliados bacteriófagos que são, por sua vez, predados por organismos carnívoros. Já os ciliados móveis de fundo alimentam-se de parte das bactérias formadoras de flocos, ou seja, apenas das que se encontram à superfície dos flocos, levemente aderidas a estes. Estas relações de competição e predação originam oscilações e sucessões de populações até que a estabilidade dinâmica seja atingida [14].

Desde o início da colonização até à estabilização do sistema, é possível identificar-se 3 fases distintas:

- A fase inicial é caracterizada pela presença de espécies típicas do esgoto bruto, essencialmente, ciliados nadadores (p.ex., *Paramecium caudatum*) e flagelados (como *Heteronema* e *Bodo*), independentes das lamas ativadas. Com a formação das lamas, estes competem com espécies melhor adaptadas ao ambiente no tanque de arejamento, e o seu número decresce rapidamente.
- A fase seguinte é uma de transição, sendo caracterizada pelo forte crescimento de ciliados típicos do habitat do tanque de arejamento. Existe uma elevada riqueza de espécies, mas a sua composição vai variando com a formação progressiva das lamas ativadas. Os ciliados nadadores estão envolvidos, apenas, nos primeiros dias de colonização sendo, gradualmente, substituídos

por móveis de fundo (p.ex., *Aspidica costata*) e formas sésseis (como *Vorticella* spp. e *Epistylis*).

- Na terceira fase, ou estado estacionário, a comunidade de ciliados presente no tanque de arejamento traduz as condições estáveis desse ambiente, resultantes do balanço entre a carga orgânica e as lamas produzidas, removidas e recicladas <sup>[14] [31]</sup>.

Uma ETAR, em pleno funcionamento, não tem necessariamente espécies características de uma das fases de colonização, a não ser que certas disfunções causem regressões das condições ambientais, como a variação da quantidade de lamas, do grau de arejamento, do tempo de retenção das lamas ou da carga orgânica <sup>[36]</sup>.

Os protozoários ciliados desempenham, portanto, através da predação, um papel crucial no sistema de lamas ativadas, pois reduzem a densidade de bactérias dispersas, incluindo patogénicos, contribuindo para o processo de floculação, e melhorando a qualidade do efluente através da remoção de material orgânico coloidal e suspenso. Deste modo, reduzem a CBO e a concentração de sólidos suspensos do efluente final <sup>[4]</sup>.

### 2.2.1.3 Rotíferos e Nemátodes

Para além das bactérias e protozoários, nas lamas ativadas podem ainda estar presentes os rotíferos e nematodes. Os rotíferos atuam sobre as partículas em suspensão, consumindo as bactérias dispersas, contribuindo para a sedimentação e favorecendo a agregação de flocos.

Quanto aos nematodes, estes representam menos de 1% da microfauna presente nos sistemas de lamas ativadas, estando a sua presença limitada pelo curto tempo de retenção de biomassa no sistema <sup>[37]</sup>.

### 2.2.2 Problemas relacionados com a sedimentação das lamas

Os sistemas de Lamas Ativadas são muito sensíveis a alterações inesperadas nas condições de operação, principalmente em termos de carga orgânica, nutrientes e oxigénio, afetando, essencialmente, o processo de separação sólidos-líquido <sup>[38]</sup>.

O bom funcionamento de um sistema de lamas ativadas depende, em grande parte, do sucesso do processo de separação da biomassa do efluente líquido nos tanques de sedimentação, que deve ser rápido e completo, para a produção de efluentes finais límpidos. Para isso, é necessária a formação de flocos, de forma a ser possível a separação da biomassa das águas residuais tratadas <sup>[11,21]</sup>.

Geralmente, os problemas associados à separação sólidos-líquido são causados por um crescimento excessivo de bactérias filamentosas, designados por *foaming* e *bulking*. No entanto, problemas relacionados com a sedimentação das lamas podem, também, ser devidos a fenómenos de “*Pinpoint*”, *rising*, *ashing* e *washout* <sup>[21,39,40]</sup>.

### 2.2.2.1 “Pinpoint-Floc”

Na ausência de bactérias filamentosas, estando apenas presentes nas lamas ativadas bactérias formadoras de flocos, estes são pequenos, esféricos e compactos. O fenómeno de “Pinpoint-Floc” está, portanto, relacionado com o desenvolvimento de flocos frágeis, que se podem desintegrar devido ao ambiente turbulento nos tanques de arejamento (especialmente, se o arejamento for mecânico ou com difusores). Neste tipo de lamas, os flocos maiores e mais compactos sedimentam rapidamente, no entanto, os agregados menores, que foram separados dos maiores, sedimentam lentamente, originando um sobrenadante turbido <sup>[35,41]</sup>.

O índice volimétrico de lamas (IVL) é um indicador da sedimentabilidade das lamas. Quando este é inferior a 70 mL/g indica, geralmente, a predominância de flocos pequenos (“pin flocs”) <sup>[32]</sup>.

### 2.2.2.2 “Bulking”

“Bulking” é o termo usado para descrever o crescimento excessivo de bactérias filamentosas, pelo que estas reduzem capacidade de sedimentação e compactação das lamas no decantador secundário, traduzindo-se numa diminuição da qualidade do efluente final. Este é um problema comum em sistemas de Lamas Ativadas, podendo ocorrer devido às extensões dos filamentos a partir da superfície dos flocos provocando, fisicamente, a sua desagregação, ou devido ao crescimento dos filamentos juntamente com os flocos, crescendo estes à volta e aderidos aos filamentos <sup>[3,11,40]</sup>.

É possível diagnosticar este fenómeno através da determinação do Índice Volumétrico de Lamas (IVL) e de análises de microscopia, de modo a identificar-se o

organismo filamentosos responsável. Do ponto de vista operativo, o IVL é um indicador de bulking, caso o seu valor seja superior a 150 ml/g. No entanto, este valor é específico de cada estação de tratamento, dependendo do desempenho e do modelo do equipamento do decantador secundário, para além de questões hidráulicas <sup>[35,40]</sup>.

A existência de “bulking” pode ser devida a diversos fatores, tendo sido formuladas diversas hipóteses na tentativa de explicar este fenómeno. No entanto, nenhuma conduziu a uma solução definitiva.

Até ao início dos anos 70, atribuía-se a existência de competição entre bactérias filamentosas e não-filamentosas ao facto das primeiras terem uma maior razão superfície/volume (s/v), pois crescem para além dos flocos, sendo este aspeto mais vantajoso em condições de baixas concentrações de substratos. Isto porque, a transferência de massa para as células é, supostamente, facilitada a maiores taxas s/v, conduzindo a um maior crescimento das bactérias filamentosas <sup>[11]</sup>.

No entanto, os principais fatores que favorecem o desenvolvimento de diversas bactérias filamentosas nas Lamas Ativadas são a septicidade, caracterizada pela presença de ácidos gordos voláteis e compostos de enxofre reduzidos, baixa relação A/M, carência de nutrientes e baixa concentração de oxigénio dissolvido <sup>[35]</sup>.

Portanto, o sucesso de um processo de lamas ativadas está dependente do balanço nos ecossistemas entre as bactérias formadoras de flocos, como as *Pseudomonas* spp., *Zoogleal* spp., *Alcaligens* spp., *Achromobacter*, e as bactérias filamentosas, como *Nocardia* spp., *Rhodococcus* spp., Tipo 1863 e *Microthrix* spp., pelo que deve ser efetuado um controlo em relação à presença destas espécies <sup>[40]</sup>.

### 2.2.2.3 “Foaming”

Devido à presença de bactérias filamentosas livres, estas podem levar à formação de espumas persistentes e viscosas na superfície dos tanques de arejamento, sendo posteriormente transferidas para os decantadores secundários. A persistência dessas espumas conduz a uma diminuição do oxigénio através da superfície, em tanques de arejamento mecanicamente arejados, problemas de odor e a uma redução na qualidade dos efluentes, devido ao aumento de sólidos suspensos e CBO<sub>5</sub> <sup>[3]</sup>.

A ocorrência de organismos filamentosos, relacionados com os fenómenos de “foaming”, nas Lamas Ativadas, está fortemente relacionada com a presença de nocardioformes e *M. parvicella* (ambos com superfícies celulares hidrofóbicas) e, a um menor grau, com o Tipo 1863 (forma espumas branco-acinzentadas e facilmente colapsam). Quando um número significativo destes organismos se desenvolve nas lamas ativadas, estes tornam os flocos hidrofóbicos, favorecendo a sua ligação a

bolhas de ar tornando-os, assim, menos densos do que a água, pelo que flutuam até à superfície, aí se acumulando. Deste modo, vai-se formando uma espuma espessa e de coloração acastanhada <sup>[41]</sup>.

*Nocardia amarae* é a principal responsável pela formação de espumas, sendo fortemente hidrófoba, para além de produzir substâncias tensioativas a partir da metabolização dos hidratos de carbono, pelo que consegue degradar diversos hidratos de carbono, mesmo os de maior peso molecular <sup>[32]</sup>.

A formação de espumas causadas por microrganismos pode, ainda, ser devida à carência de nutrientes e desnitrificação. Os nitratos formados através de processos de nitrificação, nos tanques de arejamento, são uma fonte de oxigénio para os microrganismos facultativos presentes no fundo dos sedimentadores secundários. Os nitratos são convertidos em azoto gasoso ( $N_2$ ), e assim que tenham saturado a solução, vão ser libertados em bolhas de gás. As bolhas de  $N_2$ , como são de reduzidas dimensões e produzidas no interior dos flocos, ligam-se a estes, provocando, assim, a flutuação dos sólidos das lamas ativadas. Este fenómeno é agravado pela presença de bactérias filamentosas, pois os filamentos ajudam a capturar as bolhas de  $N_2$ .

A carência de nutrientes pode ser acompanhada pela formação de espumas pegajosas e com elevada concentração de sólidos suspensos, devido à produção de exopolímeros celulares produzidos por bactérias nas Lamas Ativadas a baixas concentrações de nutrientes <sup>[41]</sup>.

### 2.2.3 Avaliação do desempenho da ETAR

Os protozoários exercem uma forte influência sobre os sistemas de tratamento, regulando as estruturas morfológicas e taxonómicas das comunidades bacterianas, através da predação. Estes são os principais consumidores primários de bactérias e fungos, assim como uma fonte de alimento para os metazoários, construindo uma ligação essencial na rede trófica. Deste modo, alterações na comunidade de protozoários podem afetar toda a teia alimentar destes ecossistemas artificiais, podendo pôr em causa, por sua vez, o desempenho dos processos biológicos da ETAR <sup>[41]</sup>. Para além disso, estes organismos são sensíveis a alterações ambientais, resultantes de variações na qualidade do efluente ou nas condições de operação, em particular, da idade das lamas, carga orgânica, intensidade de arejamento e taxa A/M, podendo levar a alterações na estrutura da sua comunidade de protozoários, podendo afetar, consequentemente, o desempenho da ETAR <sup>[4]</sup>. Foi assim sugerido, devido à relação entre a limpidez e qualidade do efluente líquido nos clarificadores e a ocorrência de protozoários, que a presença de certos protozoários ou espécies

particulares de ciliados pode ser usada como indicador do desempenho da ETAR <sup>[21]</sup>. Por esse motivo, os ciliados são largamente utilizados como indicadores do desempenho das lamas ativadas, pelo que se efetuam análises à estrutura da comunidade de protozoários, da diversidade e densidade de ciliados, estando estas, por sua vez, associadas a uma grande gama de características físico-químicas e operacionais destes sistemas <sup>[4]</sup>.

Diversos estudos demonstraram que o número de ciliados presentes em ETAR's com um bom desempenho é cerca de  $10^6$  indivíduos/L. Caso estes organismos estejam abaixo ou acima deste número, pode-se concluir que:

- $<10^4$  ind./L pode indicar uma má purificação do sistema, com a proliferação de bactérias dispersas, tornando o efluente turbido, aumentando consequentemente, a CQO do efluente tratado.
- $>10^7$  ind./L indica, geralmente, uma boa purificação e um ótimo desempenho da ETAR <sup>[30]</sup>.

A análise da microfauna como um indicador do desempenho das lamas ativadas é cada vez mais comum, e as espécies de protozoários aí presentes têm sido bastante estudadas, desde o século passado, uma vez que esta análise fornece informação útil sobre a atividade biológica das lamas ativadas, baseadas na estrutura das comunidades microbianas presentes nos tanques de arejamento <sup>[5]</sup>.

Recentemente, com a consciencialização do seu potencial como indicadores das condições de operação, houve um aumento do interesse em associar as espécies de protozoários com os parâmetros operacionais <sup>[35]</sup>.

O conhecimento da composição da comunidade de protozoários ciliados pode ser usado para a determinação do estado de funcionamento dos processos biológicos, isto é, nem sob ou sobrecarregadas, adequadamente arejadas, com tempo de retenção apropriado, etc. Como é possível observar na tabela 2, os ciliados sésseis e móveis de fundo são, geralmente, abundantes em ETAR com um bom desempenho <sup>[5,22,25]</sup>. As amibas com teca são, igualmente, representativas de uma boa eficiência depurativa, sendo, habitualmente, encontradas nos tanques de arejamento dos sistemas de lamas ativadas que realizam a remoção de azoto (essencialmente, a *Arcella* e *Euglypha*) <sup>[5]</sup>.



A *Arcella* sp., *Carchesium* sp., *Epistylis* sp., *Euglypha* sp., *Euplotes* sp., ordem Monogononta, *Peranema* sp., *Trithigmostoma* sp., *Trochilia* sp., *Vorticella aquadulcis* e *Zoothamnium* sp., são alguns dos indicadores de efluentes de boa qualidade. Já certos ciliados sésseis pertencentes ao género *Opercularia* e à espécie *Vorticella microstoma*, ciliados sésseis do género *Trachelophyllum*, ciliados bacterívoros nadadores e pequenos flagelados são, habitualmente, considerados como indicadores de efluentes de má qualidade <sup>[5,21,25]</sup>.

Acredita-se que os organismos pertencentes à subclasse de Nemátodes, *Opercularia* sp. e *V. microstoma*, são dominantes em condições de fraco arejamento (abaixo de 0.2-0.5mg O<sub>2</sub>/L), enquanto que *Aelosoma* sp., *Carchesium* sp., *Euglypha*, *Arcella* sp., ordem Monogononta, *Trochilia* sp., *V. aquadulcis* e *Zoothamnium* sp., são indicadores de um arejamento satisfatório (acima de 1-2 mg O<sub>2</sub>/L) <sup>[25]</sup>.

Tabela 2 – Situações particulares do funcionamento de estações de tratamento biológico de águas residuais por lamas ativadas [21,36,30,42]

Protozoários dominantes	Eficiência	Possíveis causas
<b>Pequenos flagelados</b>	Baixa	Lamas pouco oxigenadas, cargas elevadas, entrada de substâncias em via de fermentação
<b>Pequenos ciliados nadadores</b>	Medíocre	Lamas pouco oxigenadas, baixo tempo de retenção de lamas
<b>Grandes ciliados nadadores</b>	Medíocre	Carga muito forte, lamas pouco oxigenadas
<b>Determinados ciliados sésseis (<i>Opercularia</i> sp. e <i>Vorticella microstoma</i>)</b>	Baixa	Fenómenos transitórios (extração recente de lamas, fluxo descontínuo)
<b>Ciliados móveis de fundo</b>	Boa	-
<b>Ciliados sésseis e móveis de fundo</b>	Boa	-
<b>Pequenos flagelados e pequenas amibas nuas</b>	Baixa	Elevada carga
<b>Amibas com teca</b>	Boa	Carga baixa; licor diluído, boa nitrificação

Resumindo, um sistema de lamas ativadas eficiente apresenta as seguintes características:

- ✓ Elevada densidade da microfauna ( $\geq 10^6$  indivíduos/L);
- ✓ Microfauna composta, principalmente, por ciliados móveis de fundo e sésseis, e praticamente sem flagelados;
- ✓ As espécies e os grupos de ciliados são muito diversificados, e nenhum domina numericamente em mais do que um fator de 10.

Quando isto não acontece, é necessário a determinação do grupo dominante da microfauna de modo a diagnosticar-se a sua causa, associada ao estado particular de funcionamento da ETAR <sup>[5]</sup>.

### 2.2.3.1 Métodos de Análise

No sentido de se caracterizar os sistemas de lamas ativadas e de se manter os processos em bom funcionamento, são necessárias análises biológicas, sendo estas um complemento das análises físico-químicas <sup>[39]</sup>.

A análise da microfauna, como um indicador do desempenho das ETAR, é frequentemente aplicado nos estudos biológicos das lamas ativadas, e a sua aplicação é cada vez mais comum, uma vez que fornece informação útil sobre a atividade biológica das lamas ativadas, baseadas na estrutura das comunidades dos microrganismos presentes nos tanques de arejamento <sup>[5,43]</sup>. Estas análises provaram ser altamente eficientes na avaliação e previsão do desempenho dos sistemas de lamas ativadas <sup>[43]</sup>.

Geralmente, a identificação e quantificação de espécies de protozoários e metazoários é efetuada através de análises ao microscópio e contagem manual. No entanto, este método exige tempo e conhecimento técnico elevado <sup>[25]</sup>. Os métodos moleculares podem, assim, servir como uma alternativa fiável para identificação de espécies <sup>[34]</sup>.

#### 2.2.3.1.1 Análises microscópicas

As análises microscópicas da biomassa são um método rápido e simples para a identificação de alterações bruscas de desempenho da ETAR, desde que os protozoários sejam acuradamente identificados no laboratório <sup>[21]</sup>.

Este é um dos métodos utilizados para identificação de bactérias, muitas vezes baseada em características morfológicas, assim como na resposta das filamentosas, por exemplo, a alguns testes microscópicos de coloração <sup>[11]</sup>.

As observações microscópicas das lamas ativadas têm ajudado na obtenção de parâmetros quantitativos, úteis para o diagnóstico de problemas de “bulking” filamentoso, tais como o comprimento total dos filamentos estendidos, abundância e contagem de filamentos, etc <sup>[44]</sup>.

No entanto, este tipo de análise tem as suas limitações. Para além de necessitar de pessoas bem treinadas e com experiência na identificação de comunidades microbianas, algumas bactérias filamentosas têm a capacidade de modificar a sua morfologia em resposta a alterações das condições ambientais. Apesar de muitas se assemelharem, provavelmente variam, consideravelmente, na sua fisiologia e taxonomia <sup>[11]</sup>.

### 2.2.3.1.2 Métodos moleculares

Devido à dificuldade de isolamento dos microrganismos nos processos de tratamento das águas residuais, os métodos moleculares recentemente desenvolvidos podem ser uma nova ferramenta de análise da complexidade da estrutura das comunidades microbianas <sup>[23]</sup>. Têm sido desenvolvidas diversas metodologias baseadas na análise de DNA e RNA de bactérias existindo, atualmente, diversos métodos moleculares para análise das lamas ativadas, que permitem o acesso ao conhecimento fidedigno da composição das comunidades bacterianas <sup>[45]</sup>.

Foram, recentemente, desenvolvidas técnicas de análise de comparação de sequências de RNA ribossómico para identificação e classificação filogenética de bactérias. O estudo do gene 16s RNA das bactérias pode ser utilizado para a caracterização da complexidade de comunidades microbianas <sup>[11]</sup>, tendo já sido descobertos elevados níveis de biodiversidade, através da análise comparativa da sequência deste gene <sup>[46]</sup>. Uma das técnicas que tem sido frequentemente utilizada para análise do 16s RNA é a DGGE, com a qual se pode examinar a diversidade microbiana das amostras e monitorizar alterações nas comunidades. Num gel DGGE, o número, posição e intensidade de bandas fornece uma estimativa do número e abundância relativa dos ribótipos numericamente dominantes na amostra, permitindo, assim, a comparação entre diferentes comunidades microbiológicas. No entanto, com este método molecular, apenas ficam representadas as espécies mais abundantes, pelo que espécies presentes em pequena quantidade mas potencialmente importantes podem não ser detetadas. Portanto, devem ser utilizados primers específicos, permitindo a amplificação e análise dos genes 16s RNA de grupos específicos existentes numa determinada comunidade microbiológica <sup>[47]</sup>.

É possível, também, estudar a estrutura da microfauna através de deteção direta e identificação de células individuais usando-se, para isso, técnicas de imunofluorescência ou hibridação com sondas oligonucleotídicas direcionadas para o RNA ribossómico. Com esta análise, é possível tirar conclusões acerca da atividade metabólica do DNA, diversidade genética, etc. A intensidade do sinal de hibridação está diretamente correlacionado com a taxa de crescimento das culturas bacterianas.

Já a técnica de citometria por fluxo permite uma rápida análise de células individuais, facilitando, assim, a monitorização da composição e dinâmica das comunidades microbianas, podendo esta ser mais rápida e frequentemente realizada [48].

### 2.2.3.2 Índice Biótico de Lamas (IBL)

As análises à microfauna são, frequentemente, aplicadas no estudo biológico das lamas ativadas, e têm-se demonstrado altamente eficientes na avaliação e previsão do desempenho destes sistemas, assim como da qualidade do efluente final. Isto levou ao desenvolvimento de índices bióticos específicos, no qual o Índice Biótico de Lamas (IBL), criado por Madoni, é um dos mais utilizados e conhecidos mundialmente [3].

Madoni et al. (1993) observaram, durante 1 ano, a microfauna em 17 sistemas de lamas ativadas, e quantificaram relações entre determinadas espécies de ciliados e os parâmetros operacionais e o desempenho das ETAR, como sendo válidas para todos os sistemas de lamas ativadas. Em 1994, Madoni propôs, então, o IBL, de forma a demonstrar a importância dos protozoários no desempenho do tratamento biológico [44]. O IBL foi depois validado em estudos alargados em Itália e em várias partes do globo.

Este índice é baseado na abundância e diversidade da microfauna, e na diferença de sensibilidades reveladas por alguns grupos de microrganismos aos fatores físico-químicos e operativos prevaletentes no sistema. O IBL permite a identificação e quantificação de grupos específicos de protozoários nas lamas ativadas dos tanques de arejamento, como pequenos flagelados, ciliados nadadores, móveis de fundo, sésseis e amibas com teca. Outros grupos como rotíferos e nematodes podem ser, também, usados na avaliação da qualidade biótica, no processo de lamas ativadas [5,43].

### 2.2.3.3 Bactérias filamentosas como organismos indicadores

Os organismos filamentosos podem ser vistos como indicadores de determinados problemas operacionais a ocorrer numa ETAR, caso o seu crescimento seja excessivo. No entanto, nem todas as bactérias filamentosas fornecem um diagnóstico imediato e correto, pois a sua existência pode ser devida a múltiplas causas, como é possível ver na tabela 5. O Tipo 1701 pode ser um bom indicador pois à sua presença associa-se a uma única causa (baixo teor em OD). Já com a *Thiothrix* o mesmo não acontece <sup>[2]</sup> <sup>[32]</sup>.

Tabela 3 - Organismos filamentosos dominantes indicadores de problemas operacionais das Lamas Ativadas [2,32]

Causa	Organismos filamentosos indicadores
Baixa taxa A/M	<i>M. parvicella</i> , <i>Nocardia</i> sp., <i>H. hydrossis</i> , tipos 0041,0675, 0092, 0581, 0961, 0803
Baixo teor em oxigénio	1701, <i>S. natans</i> ; possivelmente 021N e <i>Thiothrix</i> sp.
Esgotos sépticos	<i>Thiothrix</i> sp., <i>Beggiatoa</i> sp., possivelmente 021N
Baixo pH	Fungos
Carência de nutrientes (N e/ou P)	<i>Thiothrix</i> sp., possivelmente 021N

### 3. Materiais e Métodos

Este estudo foi desenvolvido no período compreendido entre abril e julho de 2012, na ETAR de Gaia Litoral. Durante um período de 4 meses, foram analisadas 25 amostras de Lamas Ativadas, de modo a identificar-se e quantificar-se os protozoários aí existentes, calcular-se o IBL, e analisar-se a comunidade de bactérias filamentosas. Foram recolhidos todos os resultados das análises físico-químicas realizadas no período de abril a julho, incluindo os dados de pH, SST, SSV, nitratos, amónia, azoto e fósforo total, CQO e CBO<sub>5</sub>, para além dos valores de OD, SVI e idade das lamas, e calculadas as taxas F/M e o TRH. Por fim, foram determinados os coeficientes de correlação entre a densidade da microfauna e os parâmetros físico-químicos e operacionais mencionados.

Para a observação de protozoários e filamentosas foram recolhidas amostras no período da manhã, prosseguindo-se à sua análise assim que possível. No caso dos protozoários foi calculado o IBL, e quanto às filamentosas foram feitas colorações Gram e Neisser.

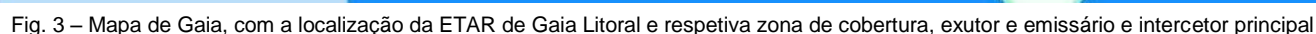
As análises microscópicas foram efetuadas recorrendo-se a um microscópio ótico, binocular (Motic®; B3 *Professional Series*), em campo claro e contraste de fase.

Todos os resultados foram registados em folhas de *Excel* e, por fim, correlacionados com os dados físico-químicos (análises efetuadas pela equipa técnica do laboratório) e de operação da ETAR.

---

#### 3.1 Caracterização da ETAR de Gaia Litoral

Localizada na freguesia de Canidelo e enquadrada no sistema de Drenagem de águas Residuais da Bacia do Oceano Atlântico, a ETAR de Gaia Litoral, local de estudo deste trabalho, está dimensionada para uma população de 300.000 habitantes, destinando-se ao tratamento dos efluentes domésticos e industriais provenientes da parte Ocidental e Norte do concelho. A sua área está delimitada pela autoestrada a Nascente, o mar a Poente e o Rio Douro a Norte, até à Ponte de D. Luís, incluindo o Centro Histórico e quase toda a totalidade da cidade de Gaia (fig.3).



A tabela 6 é referente aos dados de base da ETAR, apresentando as condições de afluência quantitativas das águas residuais brutas, nomeadamente o caudal de dimensionamento processual, caudal de dimensionamento hidráulico ponta, concentração e carga da CBO<sub>5</sub>, SST e coliformes fecais.

Tabela 4 – Condições de afluência quantitativas das águas residuais brutas

Condições de afluência		2000	2020	2030
População atendida (hab.)		202668	272539	321150
Caudal de dimensionamento processual (m <sup>3</sup> /dia)	_ Sem infiltração	33238	55598	69923
	_ Com infiltração	39886	66718	83918
Caudal de dimensionamento hidráulico ponta (m <sup>3</sup> /dia)		2671	4237	5201
CBO <sub>5</sub> (kg/d)		12160	16352	18729
CBO <sub>5</sub> sem infiltração (mg/l)		366	294	268
SST (kg/d)		18240	24529	28094
SST sem infiltração (mg/l)		549	441	402
Coliformes fecais		1,0x10 <sup>6</sup>	8,2x10 <sup>5</sup>	—

A linha de tratamento principal da ETAR de Gaia Litoral é constituída por uma fase líquida (tratamento de efluentes) e sólida (tratamento de lamas), pelo tratamento de odores (desodorização) e, ainda, pelo reaproveitamento da água tratada (rega, essencialmente).

Na tabela 7 apresentam-se os principais órgãos constituintes do tratamento na ETAR.

Tabela 5 – Principais órgãos do sistema de tratamento da ETAR de Gaia Litoral

Linha de tratamento	Tipo de tratamento	Órgãos
Linha líquida	Tratamento preliminar	Grades mecânicas (3 canais em paralelo, 1 de reserva)
	Tratamento primário	SEDIPAC 3D
	Tratamento biológico	4 Reatores biológicos cobertos, com difusores de fundo; 4 Decantadores secundários retangulares de fundo plano, equipados com um raspador de superfície.



	Tratamento terciário	Sistema UV do tipo aberto, com lâmpadas de arco de mercúrio de baixa pressão e disposição horizontal
Linha sólida	Tratamento de lamas	2 Digestores anaeróbios; Espessador; Flotador; 2 Centrífugas
Linha gasosa	-	Gasómetro; Purificador; Cogrador
Desodorização	-	Torre de lavagem ácida, oxidante e alcalina

Na ETAR de Gaia Litoral, os efluentes provenientes de norte e sul do concelho são recolhidos em dois coletores distintos, e posteriormente misturados, e enviados para o tratamento preliminar, que ocorre no edifício da obra de entrada, onde existe um sistema de gradagem. Nas grades mecânicas vão ser separados os sólidos mais grosseiros do efluente.

Numa segunda etapa, o efluente vai ser sujeito a um tratamento primário, o qual ocorre num órgão compacto denominado “SEDIPAC 3D” (ocupa 3 vezes menos área que um decantador primário convencional), estando aí incluídos o desarenamento, o desengorduramento e, ainda, a decantação primária. Separam-se, assim, as gorduras, areias e sólidos sedimentáveis, e da decantação resultam as lamas primárias.

De seguida, o efluente segue para o tratamento secundário. Este é um processo biológico de lamas ativadas convencional (média carga), que ocorre nos tanques de arejamento, no qual os microrganismos existentes no efluente são responsáveis pela degradação da matéria orgânica, formando-se, por sua vez, biomassa. Uma vez que neste tipo de tratamento é necessário um arejamento e homogeneização constante do licor misto, os tanques biológicos estão providos de difusores de fundo, que asseguram a mistura e a existência de oxigénio.

O tratamento secundário inclui, ainda, a decantação secundária, onde ocorre a sedimentação da biomassa formada, originando as lamas secundárias, possibilitando, assim, a sua remoção.

O efluente clarificado vai ser conduzido até ao exutor submarino, de forma a ser lançado no mar a 30m de profundidade, a 2 Km da costa.

Na ETAR de Gaia Litoral realiza-se, ainda, tratamento terciário (filtração e desinfecção por UV), pois há um aproveitamento de cerca de 30% das águas residuais tratadas para a rega.

Relativamente à linha sólida, as lamas primárias e secundárias, formadas nos processos de tratamento da linha líquida, vão ser encaminhadas para o espessador (espessamento gravítico das lamas) e flotador, respetivamente. Posteriormente, ambas vão ser misturadas, formando a lama mista e utilizadas para alimentar os digestores anaeróbios.

Na digestão anaeróbia as lamas vão ser digeridas e, posteriormente, desidratadas (desidratação por centrífuga), de modo a formar um resíduo que pode ser usado como fertilizante agrícola, pois contém uma elevada quantidade de azoto e fósforo. Há, deste modo, uma valorização agrícola do composto.

É ainda possível o reaproveitamento do biogás produzido na operação de digestão anaeróbia como fonte de energia para a própria instalação, através da existência de uma unidade de cogeração, que produz energia térmica e elétrica a partir do gás formado, assegurando até 35% das necessidades da ETAR. O biogás é armazenado no gasómetro.

Como em todas as ETAR's, há produção de odores, devido à natureza dos produtos tratados, pelo que esta contém, ainda, um sistema de desodorização (adsorção gás-líquido), no qual o ar vai ser tratado através de 3 colunas de adsorção (torres de lavagem): ácida, oxidante e alcalina, que funcionam em contracorrente, com a adição de reagentes de neutralização. Primeiro é adicionado ácido sulfúrico na torre de lavagem ácida (reação de neutralização, eliminando o amoníaco e aminas), de seguida hipoclorito (elimina o sulfureto de hidrogénio, os sulfuretos orgânicos, os mercaptanos, e também, amoníaco e aminas) e, por fim, soda cáustica (elimina os ácidos carboxílicos, o sulfureto de hidrogénio, os mercaptanos e parte do  $\text{CO}_2$ ). Na ETAR de Gaia Litoral, a necessidade é ainda maior, pois esta é uma ETAR coberta. Sendo assim, o ar a tratar é admitido na parte inferior da torre, enquanto que a solução reativa de lavagem é dispersa no topo e recirculada permanentemente.

A ventilação é imprescindível para que não haja a difusão de poluentes atmosféricos, produzidos no decorrer do tratamento, para o exterior. Como há produção de odores em alguns órgãos da ETAR, estes são confinados e submetidos a pressões negativas, inferiores à pressão atmosférica, evitando-se, assim, a saída desses maus cheiros para o exterior.

Na figura 4 está resumida a sequência de processos de tratamento realizados na ETAR de Gaia Litoral.

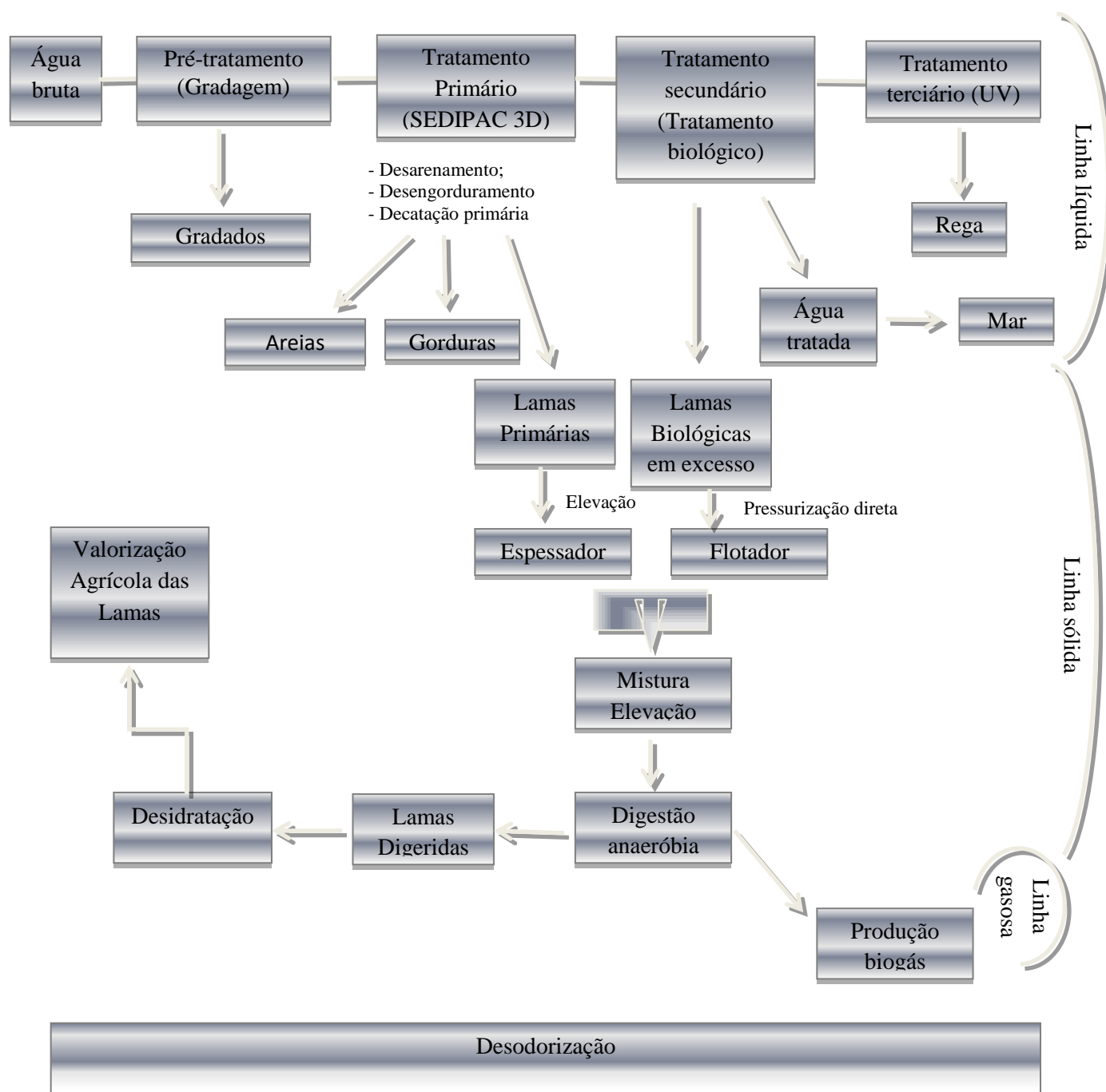


Fig. 4 - Esquema de tratamento da ETAR de Gaia Litoral

## 3.2 Análise de protozoários

### 3.2.1 Recolha e acondicionamento das amostras

As amostras pontuais foram recolhidas no período da manhã, em garrafas em aço inoxidável, com 1L de capacidade. esta é provida de um sistema que permite o

controlo da abertura da garrafa pelo operador. A garrafa é mergulhada fechada e à profundidade desejada, a tampa é puxada por um cabo, permitindo a entrada do licor misto apenas no ponto pretendido (a meio do tanque de arejamento, em profundidade e comprimento). As amostras eram recolhidas em pontos bastante homogeneizados, evitando-se os locais vizinhos das paredes dos tanques de arejamento (zonas mortas), do sistema de arejamento, ou dos pontos de inserção de lamas recicladas e locais com espuma.

As amostras após recolhidas foram transferidas para frascos de 1L de capacidade. Como o oxigénio dissolvido no licor misto é completamente usado para a atividade metabólica dos microrganismos num curto espaço de tempo (20-30 minutos), os frascos não devem ser completamente cheios, uma vez que deve existir ar residual para precaver situações de anóxia durante o transporte. Neste estudo não foi necessário o uso de arejadores portáteis devido à curta distância dos tanques de arejamento ao laboratório, e porque se procedeu de imediato à observação microscópica de protozoários. Calculou-se o índice biótico de lamas, geralmente, duas vezes por semana (terças e quintas feiras), de modo a coincidir com as análises físico-químicas de rotina efetuadas na ETAR.

### 3.2.2. IBL

O IBL foi calculado de acordo com o método proposto por Madoni, em 1994, usando-se para isso as tabelas indicadas por este para obtenção do índice.

Começou-se pela fase de rastreio, também designada por *screening*, de modo a identificar-se, previamente, as espécies presentes na amostra, seguida da contagem das mesmas. Os pequenos flagelados foram contabilizados na diagonal da Câmara de Fuchs-Rosenthal <sup>[5]</sup>.

#### 3.2.2.1. Grupos dominantes

Como já foi referido, a densidade e a diversidade da microfauna estão relacionadas com o desempenho da ETAR, sendo que os grupos dominantes indicadores de boas condições de funcionamento são os ciliados móveis de fundo, os ciliados sésseis e amibas com teca, e os que indicam um mau estado dos efluentes são os pequenos flagelados, ciliados nadadores e as espécies *Vorticella microstoma* e *Opercularia* spp..

Em princípio, uma ETAR em pleno funcionamento não contém nenhum grupo ou espécie numericamente dominante em relação aos outros componentes, muito pelo

contrário. A microfauna é muito diversificada, sendo composta por diferentes grupos de organismos, em que dentro de cada um existe uma elevada diversidade de espécies. Quando a microfauna é composta por um grupo dominante ou espécie, pode ser um índice de um desequilíbrio trófico, devido à existência de fatores limitantes (falta de arejamento, sob ou sobre carga, presença de substâncias tóxicas, forte extração de lamas, etc.) que favorecem o crescimento de formas mais tolerantes às novas condições geradas por esses fatores, impedindo, por sua vez, o desenvolvimento de outras espécies <sup>[5]</sup>.

- Flagelados

Os pequenos flagelados (como *Bodo*, *Polytoma* e *Tetranity*) entram continuamente no sistema através do afluente, e como competem com os ciliados bacterívoros por bactérias dispersas, para além de estarem sujeitos à predação pelos ciliados carnívoros, estão presentes, usualmente, em reduzido número (menos de 10 indivíduos contados na diagonal da Câmara de Fuchs-Rosenthal) em ETAR em pleno funcionamento. Sendo assim, a sua densidade é, apenas, elevada (>10 ind./l) na fase de arranque do sistema, quando os flocos ainda não se encontram devidamente formados, ou caso haja alguma disfunção nos processos operacionais da ETAR, provocando um decréscimo na eficiência depurativa. Os pequenos flagelados são considerados dominantes na amostra em questão, quando são observados mais de 100 indivíduos ao longo da diagonal, e a sua predominância está associada a uma redução da eficiência do processo depurativo, devido a múltiplas causas, tais como: baixas concentrações de OD, elevadas cargas orgânicas (> 0.9 Kg CBO/Kg SST.d) e presença de substâncias fermentativas.

Os grandes flagelados, como *Euglena* e *Peranema*, não são frequentemente observados nas lamas ativadas, onde raramente crescem em grande número, estando a sua presença associada a efluentes com matéria orgânica muito diluída <sup>[36]</sup>.

- Nadadores

Os ciliados nadadores estão presentes em reduzido número, a não ser na fase de arranque, quando os sésseis ainda estão ausentes e os flocos não estão devidamente formados, ou devido a disfunções da ETAR. Estes organismos necessitam de elevadas densidades bacterianas para sobreviverem, pois competem com os ciliados sésseis por alimento. Estes últimos são filtradores mais eficientes, ganhando na competição pelas bactérias dispersas do licor misto. No entanto, os ciliados nadadores são mais resistentes à carência de oxigénio e à entrada de compostos tóxicos do que outros componentes da microfauna. A dominância dos

ciliados nadadores está associada, geralmente, a efluentes de má qualidade. Por outro lado, a inexistência de nadadores é, também, um indicador de efluentes de fraca qualidade.

Os pequenos ciliados nadadores, como *Colpidium* e *Uronema* dominam, por vezes, a microfauna dos sistemas de lamas ativadas, quando estes operam com tempos de retenção de lamas reduzidos ou com oxigenação deficiente. Também as elevadas cargas orgânicas (0.6-0.9 kg CBO/Kg SST.d) favorecem o crescimento e predominância dos ciliados nadadores.

Neste grupo dominante, apenas devem ser considerados os ciliados bacterívoros e não os carnívoros nadadores, como *Litonotus* <sup>[5]</sup>.

- *Vorticella microstoma*

*Vorticella microstoma* é um ciliado sésil, presente nas lamas ativadas na primeira fase de colonização sendo, posteriormente, substituído por outras espécies, como a *Vorticella convallaria*. Estas duas espécies têm diferentes graus de tolerância à carência de oxigénio, pelo que quando há uma drástica redução da concentração de oxigénio dissolvido no licor misto, observa-se uma alternância entre estas duas espécies, predominando a *Vorticella microstoma*.

Portanto, a dominância desta espécie é um indicador de baixas concentrações de OD no tanque de arejamento. Outros autores observaram um crescimento massivo desta espécie em sistemas com elevada carga orgânica, e em efluentes com cor, com elevada concentração de SST e IVL <sup>[5]</sup>.

- *Opercularia* spp.

A *Opercularia* spp. é um ciliado sésil, sendo as espécies *O. coarctata*, *O. microdiscus* e *O. minima*, as mais frequentemente encontradas nas lamas ativadas. Normalmente estão presentes a baixas densidades, tendo sido estatisticamente provado que estas são um bioindicador útil, pois o seu número aumenta nas lamas ativadas de má qualidade.

A presença de *Opercularia* spp. está associada a elevadas concentrações de CBO e azoto amoniacal no efluente final. Estas são mais resistentes a condições limitantes do que outros protozoários, tendo sido encontrada uma elevada densidade de *Opercularia* spp. em efluentes industriais contendo substâncias tóxicas. Estas são muitas vezes associadas com a *Vorticella microstoma* <sup>[5]</sup>.

- Ciliados sésseis (>80%)

Geralmente, este grupo é codominante nas lamas ativadas, sendo dominante (>80% de toda a microfauna) quando ocorrem situações transitórias, como o rápido aumento da carga, devido à perda de lamas e entrada descontínua de carga orgânica no efluente, reduzindo a eficiência da ETAR.

A capacidade de crescimento dos ciliados sésseis numa alargada gama de valores de carga orgânica foi descoberta por Curds e Cockburn, que verificaram que estes microrganismos são dominantes em valores de 0.3-0.6Kg CBO/Kg SST.d. Já no intervalo de 0.6 a 0.9 CBO/Kg SST.d estes protozoários codominam com os flagelados.

Este grupo apenas deve ser considerado como dominante caso as espécies *Vorticella microstoma* e *Opercularia* spp. não estejam presentes em elevado número [5].

- Ciliados sésseis e de fundo

Os ciliados móveis de fundo e sésseis geralmente codominam a microfauna nas lamas ativadas, devido ao seu modo de alimentação distinto, não havendo, por isso, competição entre ambos. No entanto, a relação entre as suas abundâncias varia com a carga orgânica do efluente. Na presença de elevada carga orgânica (> 0.6 KG CBO/Kg SST.d) a maioria das espécies de ciliados móveis de fundo desaparece estando a presença destes, ainda, inversamente relacionada com o IVL. Elevadas densidades destes protozoários (> 2000 m/L), estão associadas a valores de IVL inferiores a 200, enquanto que valores de IVL superiores a 400, provocam uma redução drástica do número de móveis de fundo [5].

- Amibas com teca

Nas lamas ativadas, as amibas com teca, como levam mais tempo a desenvolverem-se, são mais abundantes ou dominantes em lamas caracterizadas por baixo fluxo e elevado tempo de retenção de lamas, e elevada concentração de OD no tanque de arejamento. Estas condições permitem a ocorrência e finalização do processo de nitrificação, para além da obtenção de efluentes de excelente qualidade, pelo que o sucesso operativo da ETAR é alcançado.

As amibas com teca são muitas vezes sazonais, sendo mais comuns no verão, quando a temperatura e taxa de crescimento aumentam.

A presença destes organismos está associada a baixas concentrações de azoto amoniacal, baixa carga orgânica e valores de IVL. De facto, quando se aplicam

altas cargas (>1 Kg CBO/Kg SST.d) e a CQO do efluente é elevada, verifica-se a substituição das amibas com teca por *Opercularia* spp. e ciliados nadadores.

### 3.2.2.2 Determinação do IBL

Na tabela de duas entradas proposta por madonni (tabela 3), na coluna da direita estão representados os diversos grupos da microfauna, e indica a qualidade biológica decrescente das lamas ativadas à medida que se desce na coluna.

Para determinação do IBL é necessário selecionar-se a entrada horizontal, correspondente ao grupo dominante da microfauna que ocupa a posição mais baixa na tabela, tendo em conta a sua abundância. A coluna vertical é determinada pela totalidade de unidades taxonómicas e pelo número de pequenos flagelados. Uma vez identificados, o IBL é obtido através da interseção da linha e coluna selecionadas, podendo este variar entre 0 a 10 valores. Estes estão, por sua vez, associados a quatro classes de qualidade, classificadas com numeração romana (I, II, III, IV), representativas da qualidade biológica das lamas ativadas (tabela 4) <sup>[3,5]</sup>.

Portanto, a análise dos grupos constituintes da microfauna apresenta uma distribuição cosmopolita e fornece uma rápida indicação do estado das lamas, do funcionamento do sistema e de quaisquer alterações a ocorrer dentro deste. Deste modo, a qualidade da água tratada pode ser estimada com rapidez, o desempenho do sistema pode ser monitorizado, e determinados problemas de operação podem ser detetados antes que o processo seja seriamente afetado <sup>[3]</sup>.

O IBL fornece um conjunto de valores numéricos objetivos, facilitando a comparação de resultados entre diferentes processos de tratamento de águas residuais, para além de permitir a monitorização diária das condições prevalentes nas instalações de tratamento, tornando-o, assim, mais vantajoso relativamente a outros índices existentes <sup>[35,43]</sup>.



Tabela 6 – Tabela de duas entradas para o cálculo do IBL com base nos grupos, densidade, e número de unidades taxonómicas da microfauna (S - nº de espécies da microfauna, excluindo os flagelados e F - nº pequenos flagelados na diagonal da Câmara de Fuchs-Rosenthal) [5]

Grupo dominante	Densidade (ind./L)	S>10		8≤S≤10		5≤S≤7		S<5	
		F<10	10< F<100	F<10	10< F<100	F<10	10< F<100	F<10	10< F<100
Ciliados móveis de fundo + sésseis* e/ou Amibas com teca	≥10 <sup>b</sup>	10	8	9	7	8	6	7	5
	< 10 <sup>b</sup>	9	7	8	6	7	5	6	4
Ciliados sésseis>80%	≥10 <sup>b</sup>	9	7	8	6	7	5	6	4
	< 10 <sup>b</sup>	8	6	7	5	6	4	5	3
Opercularia Spp.	≥10 <sup>b</sup>	7	5	6	4	5	3	4	2
	< 10 <sup>b</sup>	6	4	5	3	4	2	3	1
Vorticella Microstoma	≥10 <sup>b</sup>	6	4	5	3	4	2	3	1
	< 10 <sup>b</sup>	5	3	4	2	3	1	2	0
Ciliados Nadadores	≥10 <sup>b</sup>	5	3	4	2	3	1	2	0
	< 10 <sup>b</sup>	4	2	6	1	2	0	1	0
Peq. Flagelados (>100 na diagonal da Câmara de Fuchs-Rosenthal)	≥10 <sup>b</sup>	4		3		2		1	
	< 10 <sup>b</sup>	3		2		1		0	
*Opercularia spp. e Vorticella Microstoma não dominantes									

Tabela 7 – Conversão do valor IBL em 4 classes de qualidade biológica de lamas e respetivas avaliações [5]

Valor IVL	Classe	Avaliação
8-10	I	Lamas bem colonizadas e estáveis; atividade biológica ótima; elevada eficiência depuradora
6-7	II	Lamas bem colonizadas e estáveis; atividade biológica subóptima; eficiência depuradora suficiente
4-5	III	Atividade biológica insuficiente; eficiência depuradora medíocre
0-3	IV	Atividade biológica muito baixa; eficiência depuradora baixa

### 3.2.2.2.1 “Screening”

O *screening* foi realizado uma a duas vezes por amostra, logo após a colheita da mesma do tanque de arejamento, colocando-se uma gota de amostra numa lâmina de vidro, cobrindo-se com uma lamela de 22x22mm.

Observou-se a preparação ao microscópio ótico, usando-se uma ampliação de 100x. Por vezes, recorreu-se ao uso de ampliações superiores, como 400x, para uma correta identificação taxonómica. As amibas nuas, algas, crustáceos, e insetos não foram contabilizados, pois o método assim o determina. Apenas foram registados os protozoários pertencentes aos grupos dos grandes e pequenos flagelados, ciliados, amibas com teca, rotíferos, nematodes e dos gastrotríquios. Somente foram contabilizados como espécies presentes aquelas em que foi observado, pelo menos, dois indivíduos durante o rastreio, ou uma ou mais vezes durante a contagem.

Para a identificação das espécies presentes nas lamas ativadas recorreu-se a guias de reconhecimento de protozoários.

---

### 3.2.2.2.2 Contagem

Após a identificação das espécies, realizou-se a contagem dos micro-organismos presentes num volume conhecido de amostra. Esta fase permitiu a quantificação dos protozoários, determinando-se, assim, a abundância relativa das unidades taxonómicas (grupos, géneros ou espécies, conforme os micro-organismos), assim como dos grupos funcionais (nadadores, móveis de fundo e sésseis, dentro dos ciliados bacteriófagos).

Nesta fase, o ideal seria a utilização de uma micropipeta com pistão, de forma a medir-se de forma exata 25 µL de licor misto. Os flocos têm tendência para permanecer nas paredes internas da ponta da pipeta e com pipetas de pistão, o problema é resolvido. No entanto, na ETAR de Gaia Litoral, apenas existiam micropipetas automáticas, pelo que as análises efetuadas contêm um erro associado. No entanto, como todas as amostragens foram realizadas recorrendo-se a esta pipeta, este erro pode ser desprezado.

Sendo assim, com uma micropipeta automática pipetaram-se 25 µL de amostra e colocou-se numa lâmina de vidro, cobrindo-se a preparação com uma lamela de 22x22mm. É recomendado o uso de lamelas de 18x18mm, uma vez que a evaporação da amostra é mais lenta, mas devido à impossibilidade de obtenção das mesmas, usaram-se lamelas de maiores dimensões, pelo que foi necessário efetuar-se a

contagem mais rapidamente, de forma a não haver perda de amostra durante a análise.

De seguida, procedeu-se à análise da microbiologia no microscópio ótico de contraste de fase, sendo usada a ampliação de 100x para contar o número de indivíduos de cada espécie identificada no rastreio, determinando-se para cada espécie ou grupo, o número de indivíduos por mL de lama ativada.

A contagem da microfauna foi feita do modo como está indicado na figura 5, em ziguezague, da esquerda para a direita, abrangendo-se toda a amostra, mesmo que esta ultrapassasse os limites da lamela. Repetiu-se a contagem com uma nova preparação da mesma amostra.

No anexo II é apresentada a folha de registo de protozoários.

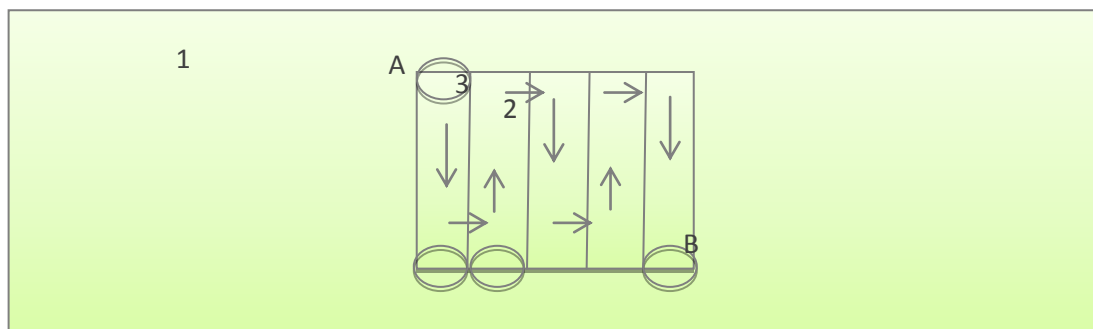


Fig.5 - Esquema representativo do procedimento de contagem da microfauna, seguindo a direção A-B, no percurso da inspeção da lamela. 1- Lâmina; 2 – lamela; 3- Campo de visão ao microscópio ótico.

### 3.2.2.2.3 Contagem de pequenos flagelados

Para a contagem de pequenos flagelados utilizou-se a câmara de Fuchs-rosenthal de 3.2  $\mu\text{L}$ , que consiste numa célula de contagem quadrangular no qual estão contidos dois reticulados com 16 quadrículas de 250  $\mu\text{m}$  cada, sendo os flagelados contabilizados na diagonal de cada câmara.

Segundo o método descrito por Madonni, colocou-se uma gota de amostra em cada reticulado e incluíram-se na contagem os flagelados que se encontravam no interior ou sobre as 16 quadrículas que formam cada uma das diagonais da câmara. Foram contabilizados usando-se um microscópio ótico de contraste de fase a uma ampliação de 200x, sendo a média dos valores das duas diagonais usada diretamente no cálculo do IBL.

### 3.3 Análise de filamentosas

Numa primeira fase analisou-se o aspeto geral dos flocos, no microscópio ótico, sob contraste de fase, com uma ampliação de 100x. De seguida, procedeu-se à identificação de espécies de filamentosas, com base nas características explicitadas por Jenkins et. Al (2004), usando-se uma ampliação de 1000x. As características analisadas estão especificadas no anexo II. Efetuaram-se, ainda, métodos de coloração (Gram e Neisser) para facilitar a identificação. Por vezes, foram analisadas amostras de espumas <sup>[30]</sup>.

---

#### 3.3.1 Recolha e acondicionamento das amostras

As lamas provenientes de ETAR de alta carga devem ser analisadas, no máximo, passados 3 a 4 dias. Caso as amostras sejam provenientes de instalações de baixa carga, estas podem ser analisadas até 8 a 10 dias depois, devendo ser conservadas num local refrigerado (4 a 5°C).

Para a análise de filamentosas não foi necessário o uso de refrigeração (4 a 5°C), uma vez que estas não ficaram mais de 8 horas sem serem analisadas, sendo que as amostras foram recolhidas no período da manhã e observadas ao início da tarde. As filamentosas foram analisadas às terças e quintas-feiras, de modo a coincidir com os dias de execução das análises físico-químicas de rotina na ETAR necessárias para a realização deste trabalho.

---

#### 3.3.2 Identificação das filamentosas

Para a identificação de organismos filamentosos observaram-se as amostras a fresco, e após coloração Gram e Neisser. Para as colorações, as lâminas foram identificadas e etiquetadas (código da coloração: N ou G; nome da amostra e data).

As características estudadas foram a presença ou ausência de ramificações (verdadeiras ou falsas), a capacidade de mobilidade (caso se verificasse, era necessário averiguar-se o tipo de movimento), a forma (direito, levemente curvo, dobrado, enrolado, irregular, em ramalhete), localização do filamento em relação ao floco (livre, interno ou externo), crescimento de bactérias sésseis (crescimento abundante ou ocasional de outras bactérias aderidas ao tricoma), presença ou ausência de bainha, indentação ao septo, forma das células (quadrangulares,

retangulares, discoides, ovais, em barril e bastonetes de extremidade arredondada) e existência de inclusões.

Relativamente às ramificações, caso existissem, verificava-se se estas eram verdadeiras ou falsas, ou seja, citoplasma contínuo entre filamentos no caso das ramificações verdadeiras (existente em fungos e nocardioformes). No caso das ramificações falsas, os filamentos apenas se encontram muito próximos. Em lamas ativadas, a falsa ramificação apenas se verifica em filamentos com bainha.

Quanto à mobilidade, as bactérias filamentosas podem apresentar movimentos deslizantes, ou de oscilação e contração, como acontece com as filamentosas *Thiothrix* e o Tipo 21N.

O crescimento sésil ocorre, geralmente, em filamentosas com bainha, podendo este tipo de crescimento servir como um indicador da presença desta estrutura clara de difícil identificação.

Após identificação das bactérias filamentosas estimou-se a sua abundância geral e de cada espécie ou Tipo, usando-se uma escala de 0 ( nenhuns) a 6 (excessivo) (tabela 8). Esta classificação subjetiva foi proposta por Jenkins et. al (2004).

Tabela 8 – Classificação e descrição da abundância geral das bactérias filamentosas

Valor quantitativo	Valor quantitativo	Abundância	Descrição
0		Nenhuns	Ausência de efeitos dos filamentos sobre os flocos
1	-	Alguns	Filamentos observados em flocos ocasionais
2	+/-	Poucos	Filamentos presentes em quantidades estritamente necessárias para formarem os flocos
3	+	Comuns	Filamentos ainda em quantidades aceitáveis (1-5 filamentos /foco)
4	++	Muito comuns	Filamentos a formar pontes entre flocos, outros a sair de flocos (5-20 filamentos/foco)
5	+++	Abundantes	Filamentosas em excesso (> 20 filamentos/foco)
6	++++	Excessivos	Só há praticamente filamentosas

### 3.3.2.1 Observação a fresco

Numa lâmina de vidro colocou-se uma gota de amostra, cobrindo-se esta com uma lamela de 22x22 mm.

Começou-se por analisar a morfologia dominante dos flocos, percorrendo-se toda a lamela a uma ampliação de 100x sob contraste de fase, de acordo com as características propostas por Jenkins et al (2004), evidenciadas no anexo II, tais como, a forma (redonda, irregular, compactos ou difusos) textura, os efeitos das bactérias filamentosas na estrutura dos flocos (nenhuma, pontes entre filamentos, crescimento dos flocos à volta dos filamentos criando uma estrutura aberta, larga e irregular), etc.

De seguida, procedeu-se à análise das bactérias filamentosas. Estudaram-se, assim, os organismos filamentosos presentes nas lamas ativadas, com uma ampliação de 1000x, sendo para isso necessário óleo de emersão.

---

### 3.3.2.2 Métodos de coloração

Através das colorações pretendia-se estudar a composição das células filamentosas, para se determinar se estas eram Gram positivas (azul violeta) ou Gram negativas (vermelhas/rosadas) e Neisser positivas (azul violeta) ou Neisser negativas (castanhos amarelados) observando-se, ainda, a posição e comprimento dos filamentos, a presença ou ausência de crescimento séssil e a existência de inclusões, para identificação das espécies.

#### → Coloração Gram

Utilizou-se um kit de coloração Gram, composto por 3 soluções e etanol 95% (ver anexo VI com a composição das soluções).

Começou-se por espalhar um pouco de amostra numa lâmina, previamente identificada, e logo que seca, foi imersa na solução 1, deixando-se agir durante 1 minuto, ao fim do qual enxaguou-se bem. De seguida, utilizou-se a solução 2, mantendo-se a lâmina imersa durante 1 minuto. Após estar enxaguada, inclinou-se a lâmina, e deixou-se escorrer gota a gota etanol 95%, durante 25 segundos. Enxaguou-se bem e cobriu-se a lâmina com a solução 3, permanecendo emersa durante 1 minuto. Por fim, observou-se ao microscópio ótico, em campo claro, a uma ampliação de 1000x.

---

#### → Coloração Neisser

Utilizou-se um kit de coloração Neisser, composto por 4 soluções (ver anexo VI com a composição das soluções).

Colocou-se um pouco de amostra numa lâmina, previamente identificada, a qual após seca foi imersa na solução 1, deixando-se agir durante 20 segundos, e ao fim do mesmo enxaguou-se bem. De seguida, cobriu-se a lâmina com a solução 2, deixando-se atuar durante 5 segundos. Enxaguou-se novamente e imergiu-se a lâmina na solução 3 durante 10 segundos. Por fim, secou-se com papel absorvente e observou-se ao microscópio ótico, em campo claro, a uma ampliação de 1000x.

### 3.4 Parâmetros físico-químicos e dados operacionais

Os parâmetros físico-químicos necessários para o estudo estão especificados na tabela 9, assim como os métodos de análise, locais de amostragem e tipos de amostras. Estão ainda indicados os dados utilizados para cálculo de determinados parâmetros operacionais necessários para este estudo.

\* Razão Alimento/Microrganismo, indicativa da carga orgânica num sistema de lamas ativadas, sendo expressa em Kg de CBO<sub>5</sub> por Kg de MLSS por dia. Um valor baixo significa que a quantidade de alimento é escassa, o que traduz um processo de tratamento mais eficiente.

$$\text{Razão A/M} = Q \times \text{CBO}_5 / \text{MLSS} \times V$$

Q: Caudal de entrada

CBO<sub>5</sub>: Carência Bioquímica de Oxigénio ao fim de 5 dias

MLSS: Sólidos Suspensos no Licor Misto

V: Volume do tanque de arejamento

\*Tempo de retenção hidráulico, tempo médio de retenção do licor misto nos tanques de arejamento do processo de lamas ativadas.

$$\text{TRH} = V/Q$$

V: Volume do tanque de arejamento

Q: caudal de entrada no tanque de arejamento

\*Idade das lamas, tempo de residência dos microrganismos no sistema. Varia com a estação, sendo superior no inverno do que no verão.

$$\text{Idade das lamas (dias)} = \text{MLSS} \times V / \text{SS}_e \times Q_e + \text{SS}_w \times Q_w$$

MLSS: Sólidos suspensos no licor misto (mg/L)

V: Volume do tanque de arejamento (L)

SS<sub>e</sub>: Sólidos suspensos no afluente (mg/L)

Q<sub>e</sub>: Caudal de entrada nos tanques de arejamento (m<sup>3</sup>/dia)

SS<sub>w</sub>: Sólidos suspensos no efluente (mg/L)

Q<sub>w</sub>: Caudal de descarga (m<sup>3</sup>/dia)

\*Índice volumétrico de lamas, medida de monitorização da sedimentabilidade das lamas. Introduce-se 1L de amostra numa proveta graduada, deixando-se em repouso durante 30 minutos, após o qual se mede o volume de decantação. IVL é, assim, o volume ocupado por 1 g de lamas ativadas.

$$\text{IVL (mg/l)} = \text{SV} \times 1000 / \text{MLSS}$$

SV: Volume de decantação (mL)

MLSS: Sólidos suspensos no licor misto (mg/L)

\*Razão CBO/CQO, indicadora da biodegradabilidade de um efluente.

CBO/CQO ≥ 0.5 – água residual que pode ser sujeita a tratamento biológico;

CBO/CQO < 0.3 – água residual tóxica ou com necessidade de aclimatização dos microrganismos para o seu tratamento.

CBO: Carência Bioquímica de Oxigénio

CQO: Carência Química de Oxigénio

\*Percentagem de remoção, representante da eficiência dos processos de tratamento na remoção de determinados constituintes das águas residuais.

$$\% \text{ Remoção} = \frac{[\text{afluente}] - [\text{efluente}]}{[\text{afluente}]} \times 100$$



Tabela 9 – Parâmetros físico-químicos e respetivos métodos de análise e locais de amostragem, e dados operacionais necessários neste estudo.

Parâmetros Físico-químicos	Métodos	Local de amostragem		
		Obra de entrada	Tanques Biológicos	Saída
pH	Potenciometria	x	X	x
CQO	Fotométrico (Kits Merck Spectroquant® Methods)	x		x
CBO <sub>5</sub>	Respirométrico (OxiTop®, IS12, WTW)	x		x
SST	APHA, 1998	x	X	x
SSV	APHA, 1998	x	X	x
P Total	Fotométrico (Kits Merck Spectroquant® Methods)	x		x
N Total		x		x
N-NH <sub>4</sub>		x		x
N-NO <sub>3</sub>		x	X	x
Volume de decantação	APHA, 1998		X	
Tipo de amostra		Composta (24h)	Pontual	Composta (24h)
Dados operacionais				
Caudal (m <sup>3</sup> /dia)		x		
Concentração de Oxigénio dissolvido			X	

### 3.5 Tratamento dos dados

No período de estudo apenas estiveram em funcionamento 3 tanques de arejamento na ETAR de Gaia Litoral, e uma vez que o comportamento e composição

da microbiologia presente nestes se mostraram semelhantes, os resultados obtidos são relativos a amostragens efetuadas sempre ao mesmo tanque (Tanque 2).

Os softwares utilizados para tratamento estatístico dos dados físico-químicos, operacionais e biológicos foram o Microsoft Excel, para cálculo de médias, desvios padrão e obtenção de gráficos necessários para a análise quantitativa e qualitativa dos resultados obtidos, e o programa STATISTICA. Este último foi utilizado para a verificação da normalidade dos dados, efetuando-se, para isso, o teste de Shapiro-Wilk, e para a obtenção de coeficientes de correlação. Como a maioria das séries de dados a correlacionar seguia uma distribuição não-normal, realizou-se o método de Kendall para a determinação das correlações estatísticas, de forma a ajudar na compreensão da relação entre a microfauna e os parâmetros físico-químicos e operacionais. As variáveis abióticas selecionadas para obtenção das correlações foram a carga orgânica do efluente e afluente ( $CBO_5$  e  $CQO$ ), concentração de nutrientes, azoto ( $NH_4-N$ ,  $NO_3-N$ , NT) e fósforo, no esgoto bruto e efluente final, e no caso dos nitratos, também no licor misto, SST no afluente, efluente tratado e licor misto e, ainda, as eficiências de remoção, a nível global, de todas as variáveis mencionadas. Foi analisada, também, a taxa A/M, o IVL e o TRH. Os fatores bióticos selecionados foram todas as espécies da microfauna observadas ao longo do estudo, em termos de abundância e frequência.

Para obtenção das correlações, todos os resultados foram linearizados de acordo com a transformação logarítmica,  $x = \ln(x+1)$

---

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1 Caracterização físico-química do afluente, efluente e licor misto

A análise dos parâmetros físico-químicos básicos foi efetuada tanto ao nível do afluente como do efluente final, assim como do licor misto.

Na tabela 10 estão indicados os valores médios, máximos e mínimos, e ainda os desvios padrão, dos parâmetros físico-químicos obtidos desde o início de abril até ao final de julho, correspondentes ao afluente, efluente e licor misto.

Tabela 10 – Médias, desvios-padrão ( $\sigma$ ), máximos e mínimos do pH, SST (mg/l), SSV (mg/l), N-NO<sub>3</sub> (mg/l), NH<sub>4</sub> (mg/l), N total (mg/l), P total (mg/l), CQO (mg/l) e CBO<sub>5</sub> (mg/l) do tanque de arejamento 2

	pH	SST	SSV	N-NO <sub>3</sub>	N-NH <sub>4</sub>	N total	P-PO <sub>4</sub>	CQO	CBO <sub>5</sub>
<b>Afluente</b>									
Média	7,36	313	276	0,4	46,9	65	8,1	759	485
Desv-Padr.	0,172	109	98	0,3	17,3	20	2,7	207	130
Máximo	7,78	493	436	1,7	72,7	92	13	1010	680
Mínimo	7,03	122	82,0	0	9,30	18	2,5	193	90,0
<b>Efluente</b>									
Média	7,43	22	21	0,4	42,7	51	2,7	58	16
Desv-Padr.	0,134	8,6	10	0,3	11,0	13	2,8	30	6,1
Máximo	7,80	41	40	1,7	65,6	85	15	111	40
Mínimo	7,19	10	8,0	0,0	21,0	30	0,7	4,0	8,0
<b>Tanque Biológico 2</b>									
Média	7,34	2668	2245	0,2					
Desv-Padr.	0,12	742,9	592,7	0,1					
Máximo	7,70	5712	3660	0,6					
Mínimo	7,12	1558	1286	0,0					

O pH manteve-se sempre perto do valor neutro, tanto no efluente à entrada, como à saída, não tendo sido registadas grandes variações, não afetando, por isso, a eficiência de depuração.

A análise a outros parâmetros evidenciou uma concentração de compostos orgânicos relativamente elevada no efluente bruto, expressa em CBO<sub>5</sub> e CQO, com um valor médio de 485 mg/l e 759 mg/l, respetivamente, nunca excedendo os 680 mg/l

de  $\text{CBO}_5$  e os 1010 mg/l de CQO. No entanto, no efluente tratado, as concentrações não excederam os valores de descarga permitidos (de acordo com o Decreto-Lei nº 236/98), apresentando uma concentração média de 16 mg/l de  $\text{CBO}_5$  e 58 mg/l de CQO, podendo ser, assim, considerado como um efluente de alta qualidade.

Quanto aos sólidos suspensos, em média obteve-se uma concentração de 2668 mg/l no entanto, em casos pontuais, a concentração foi superior a 4000mg/l e, em apenas numa amostra se obteve uma concentração de 5712 mg/l. Mas, tal como aconteceu com os valores da  $\text{CBO}_5$  e CQO, também a concentração de sólidos no efluente final foi baixa, nunca excedendo os 40 mg/l, tendo sido obtida uma concentração média de 22 mg/l.

Observando o gráfico da figura 6 constata-se que o período compreendido entre 22 de maio e 12 de junho é o que apresenta um efluente final de melhor qualidade, ao nível dos SST,  $\text{CBO}_5$  e CQO.

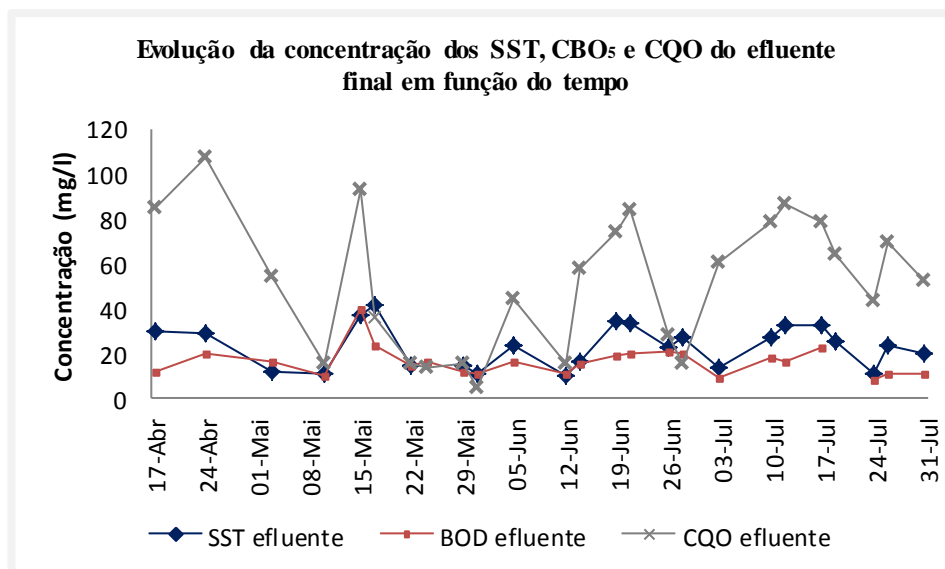


Fig. 6 – Evolução da concentração de SST,  $\text{CBO}_5$  e CQO no efluente final em função do tempo

média 42.7 mg/l), o que era de esperar, uma vez que a ETAR de Gaia Litoral é um sistema convencional de Lamas Ativadas, sem remoção de azoto e fósforo, pelo que o tempo de retenção não é suficientemente longo para que o processo de nitrificação seja completo. Isto porque, as bactérias nitrificantes têm uma baixa taxa de crescimento, necessitando, por isso, de maiores tempos de retenção para se desenvolverem. Daí que as concentrações de nitratos obtidas tenham sido muito baixas, em média 0.2 mg/l.

Na figura 7 está exposta a evolução da idade das lamas e a concentração de amónia e  $\text{CBO}_5$ , em função do tempo.

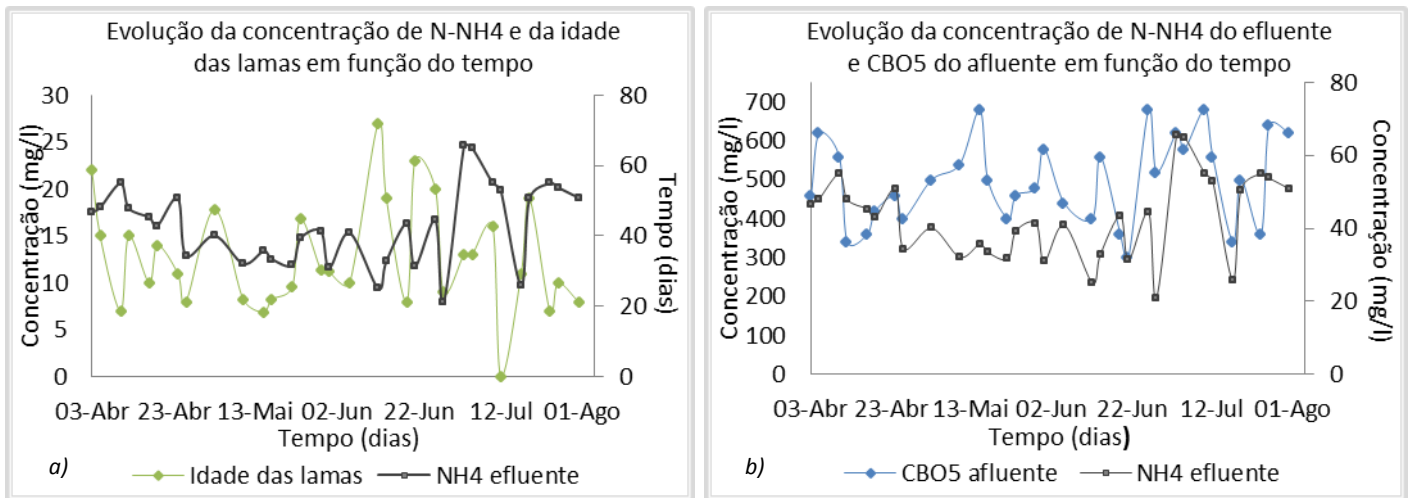


Fig. 7 – Relação entre a concentração de N-NH<sub>4</sub> e a idade de lamas e CBO<sub>5</sub>. a) Evolução da concentração de N-NH<sub>4</sub> e da idade de lamas como o tempo; b) Evolução da concentração de N-NH<sub>4</sub> e CBO<sub>5</sub> como o tempo.

Apesar de haver alturas em que a idade das lamas foi elevada, como na amostra do dia 19 de julho (19 dias), a concentração de amónia no efluente tratado registada foi de 50.6 mg/l. Segundo Drzewicki e Kulikowska (2011)<sup>[49]</sup>, tal acontecimento pode ser explicado pelo facto da atividade nitrificante diminuir com a presença de altas concentrações de compostos orgânicos. Isto porque, o oxigénio deixa de ser usado no processo de nitrificação, sendo antes canalizado para o processo de utilização de matéria carbonada.

Quanto ao fósforo total, o afluente conteve uma concentração média de 8.1 mg/l, contendo, no máximo 13 mg/l e, excecionalmente, concentrações inferiores a 3 mg/l. No efluente final as concentrações de fósforo foram, em média, 2.5 mg/l. Em apenas duas amostragens se obteve um efluente final com uma concentração superior à do efluente bruto, com 9.3mg/l e 14.5 mg/l.

Relativamente aos tanques de arejamento, o pH do licor misto manteve-se relativamente constante, por volta do 7, ideal para o desenvolvimento dos microrganismos, e como atrás já se referiu.

Os resultados das análises físico-químicas demonstraram, ainda, que na ETAR de Gaia Litoral se obtêm elevadas eficiências de remoção de matéria orgânica, sendo superior a 91% em CBO<sub>5</sub> (em média 96%) e superior a 73% em CQO (em média 91%). O mesmo se verificou com as taxas de remoção de sólidos, tendo-se obtido uma eficiência de remoção elevada, em média 81% de sólidos totais suspensos e 91% de sólidos suspensos voláteis. Apesar da remoção de fósforo não ser uma prioridade

da ETAR, não havendo, por isso, nenhum processo específico para a remoção deste nutriente, verificou-se uma eficiência de remoção relativamente elevada, em média 70%, sendo muitas vezes superior a 80%. Isto pode ser devido à assimilação de fósforo por bactérias presentes nos tanques de arejamento. Tal acontecimento é mais frequente quando estes organismos estão sujeitos a uma situação de stress (como ausência de oxigénio), levando-os a acumular fósforo. De facto, foram observados, em algumas preparações com coloração Gram e Neisser, organismos acumuladores de fósforo - PAOs (Phosphorus accumulating organisms). No entanto, a remoção deste nutriente foi, por vezes, muito baixa, ou mesmo nula, não havendo uma explicação aparente para tal variação. Quanto à eficiência de remoção de azoto total esta foi, em geral, reduzida (em média 22%), como era previsto e atrás referido (ver anexo I).

Relativamente à relação CBO/CQO, obteve-se em média um valor superior a 0.5 (valor limiar de caracterização de uma água facilmente biodegradável) -  $0.6 \pm 0.1$ , durante o período de estudo, o que traduz uma água residual com possibilidade de tratamento biológico, composta por substâncias facilmente biodegradáveis. Apenas se observou um valor de 0.4 e dois de 0.5 desde abril a julho (fig. 8).

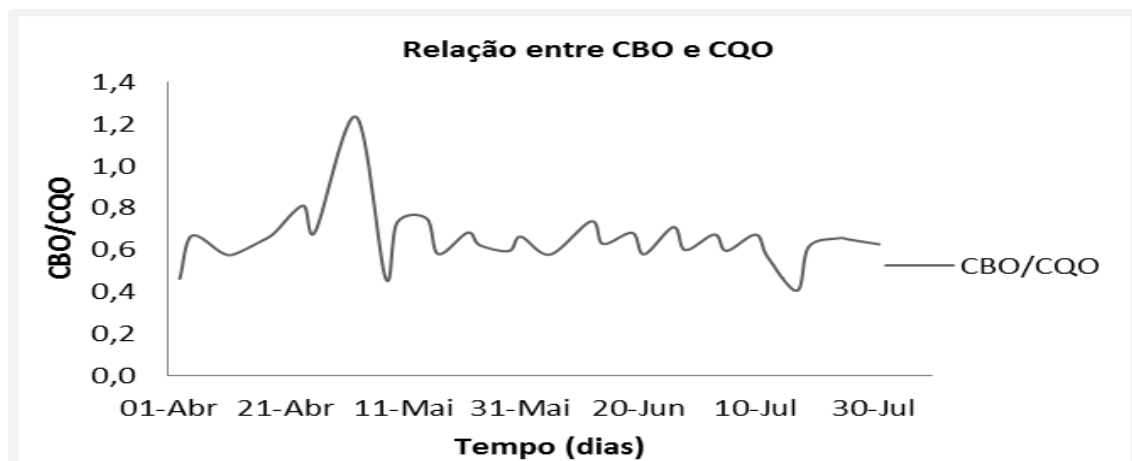


Fig. 8 – Relação entre CBO e CQO em função do tempo

Na tabela 11 estão expostos os valores médios, máximos e mínimos, assim como os desvios padrão, da taxa A/M, tempo de retenção hidráulico, idade das lamas, caudal de entrada, IVL e OD.

Tabela 11 – Médias, desvios-padrão ( $\sigma$ ), máximos e mínimos da Taxa A/M (Kg CBO<sub>5</sub>/Kg SSV/d, TRH (dias), idade das lamas (dias), caudal de entrada (m<sup>3</sup>), IVL e OD (mg/l) do tanque de arejamento 2

	Taxa A/M	TRH	Idade das lamas	Caudal de entrada	IVL	OD
<b>Média</b>	0,24	0,76	13	29467	251	0,20
<b>Máximo</b>	0,35	0,84	27	32800	416	0,25
<b>Mínimo</b>	0,14	0,69	7,0	26790	92,0	0,13
<b><math>\sigma</math></b>	0,056	0,032	5,5	1252,84	92,0	0,064

No período de estudo, a ETAR de Gaia Litoral funcionou em regime de média carga. De facto, a razão A/M média obtida foi de  $0.24 \pm 0.056$ , valor dentro da gama correspondente a um sistema de média carga (0.2-0.5). Como se pode ver na figura 9, alguns valores estiveram dentro da gama correspondente a um sistema de baixa carga (0.05-0.15, linhas tracejadas a azul claro). No entanto, na sua maioria, a razão A/M variou entre 0.2 e 0.5 (linhas tracejadas a cinzento), o que era de esperar, pois a ETAR de Gaia Litoral foi construída com possibilidade de funcionar em regime de baixa carga (arejamento prolongado) ou convencional (média carga).

O tempo de retenção hidráulico não apresentou grandes variações, sendo, em geral, cerca de 20 horas, e a idade das lamas foi, em média, 13 dias, correspondendo, por isso, a um período de arejamento prolongado. No entanto, a idade das lamas foi obtida através de várias projeções podendo, por isso, estar um pouco afastada do valor real.

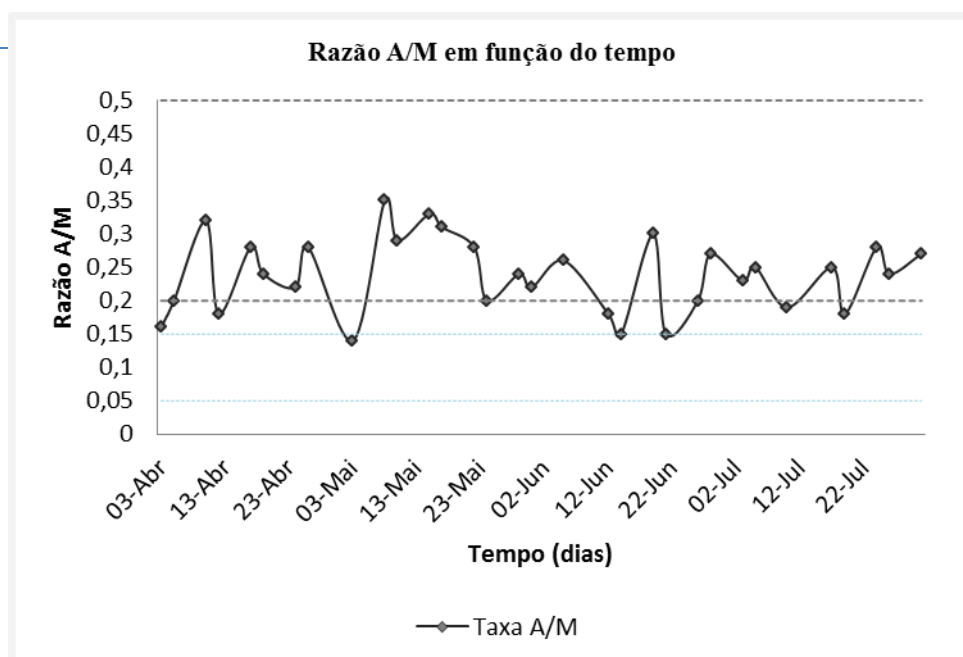


Fig. 9 – Razão A/M em função do tempo. As linhas a tracejado representam a gama de valores de diferentes sistemas de lamas ativadas: --- sistema convencional de lamas ativadas; --- arejamento prolongado.

## 4.2 Caracterização da comunidade de protozoários e pequenos metazoários na ETAR de Gaia Litoral

Ao longo de 4 meses de estudo da comunidade de protozoários e metazoários nas lamas ativadas da ETAR de Gaia Litoral, foram analisadas 25 amostras na sua totalidade, tendo sido registadas 24 unidades taxonómicas, pertencentes a 3 grupos funcionais, nomeadamente, ciliados nadadores (2 espécies), sésseis (6 espécies) e móveis de fundo (5 espécies), para além de terem sido observadas quatro espécies de ciliados carnívoros, três espécies de flagelados, duas espécies de amibas com teca e, ainda, pequenos metazoários. Consoante a amostra, a diversidade de espécies observadas foi variando, nunca menos de 5 e no máximo 12.

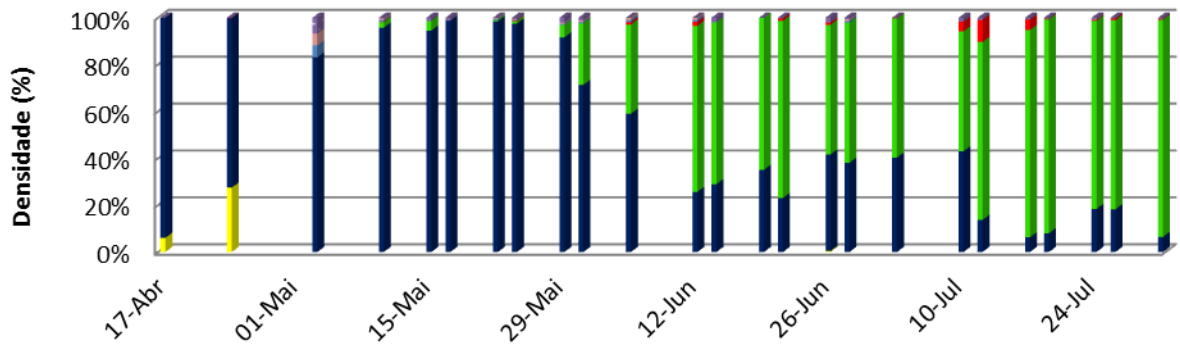
A densidade total máxima da microfauna obtida, de acordo com o método de cálculo do IBL, foi 11560 ind./ml, sendo a mínima 1034 ind./ml. Em média, a densidade total foi  $4470 \pm 3.30$  ind./ml sendo, por isso, segundo Madoni (1994)<sup>2</sup> indicadora de um sistema de tratamento eficiente (densidade  $\geq 10^6$  ind./l).

### 4.2.1 Abundância relativa dos grupos funcionais de protozoários e pequenos metazoários

A figura 10 traduz a evolução dos grupos de protozoários e metazoários observados nas amostras recolhidas ao longo do tempo.



**Evolução dos grupos de protozoários e metazoários em função do tempo**



	17-Abr	24-Abr	03-Mai	10-Mai	15-Mai	17-Mai	22-Mai	24-Mai	29-Mai	31-Mai	05-Jun	12-Jun	14-Jun	19-Jun	21-Jun	26-Jun	28-Jun	03-Jul	10-Jul	12-Jul	17-Jul	19-Jul	24-Jul	26-Jul	31-Jul
%A	0,0	0,0	5,4	0,3	1,2	1,2	0,0	0,9	2,0	1,1	0,0	0,0	1,8	0,0	0,3	2,1	0,6	0,1	1,5	0,9	0,7	0,4	0,5	0,3	0,5
Carnívoros	0,0	0,0	4,1	0,6	0,0	0,0	0,5	0,2	0,5	0,6	1,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
metazoários	0,0	0,0	4,1	0,6	0,0	0,0	0,5	0,2	0,5	0,6	1,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
G. flagelados	0	0,1	0	0,2	0	0	0	0,2	0	0	1	1,6	0	0	1	0,9	0	0,2	3,5	8,9	4,3	0,2	0,4	0,7	0,3
%MF	0,0	0,0	0,0	2,3	3,8	0,0	0,5	0,9	5,1	25	38	65	65	64	75	55	59	59	43	71	86	88	79	79	88
%S	93	72	67	91	88	92	95	96	89	70	59	23	27	34	23	41	38	40	36	12	6,1	7,8	18	17	6,1
%N	6,0	27	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Fig.10 – Evolução dos grupos de protozoários em função do tempo. A- Amibas com teca; MF - móveis de fundo; S – Sésseis; N - Nadadores

Os protozoários frequentemente observados e mais abundantes foram os ciliados sésseis e móveis de fundo, e com uma ocorrência esporádica e densidades inferiores, os ciliados nadadores e carnívoros, para além dos metazoários. As amibas com teca e os grandes flagelados foram avistados num grande número de amostras mas, geralmente, com baixas abundâncias (<5%). Segundo Madoni et. Al (1993)<sup>[50]</sup>, as amibas e flagelados estão associados a afluentes com baixa carga orgânica e, de facto, se analisarmos a figura 11, verifica-se que os picos máximos de densidade relativa destes dois grupos funcionais correspondem a valores mais baixos da taxa A/M.

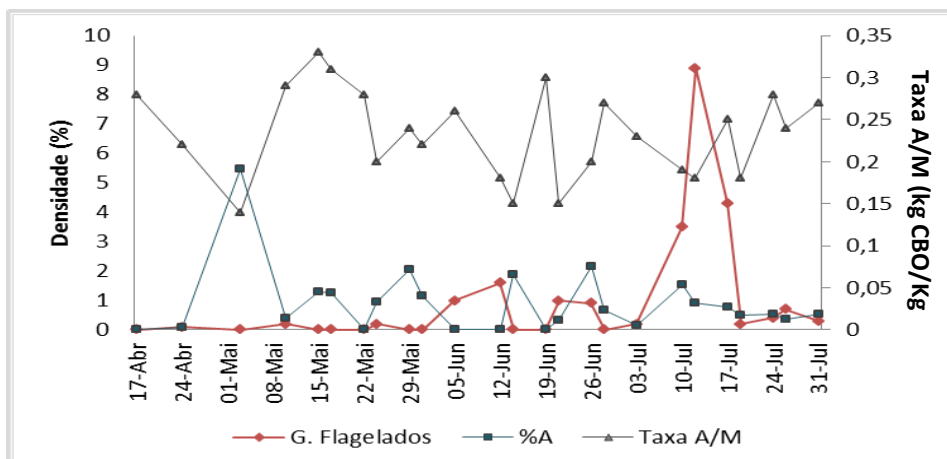


Fig. 11 – Evolução da densidade relativa do grupo dos grandes flagelados e amibas com teca (A), encontrados nas lamas ativadas, e dos valores da taxa A/M, em função do tempo.

Verificou-se que, dentro do grupo de protozoários ciliados, nos dois primeiros meses de estudo (abril e maio), os ciliados sésseis foram os mais abundantes (fig. 10). Apesar de a sua ocorrência permanecer constante ao longo do tempo, a sua abundância foi diminuindo, sendo que no final do estudo encontravam-se, apenas, com uma densidade de 6.1%. Como no mês de março e princípios de abril, a ETAR de Gaia Litoral se encontrava num período de manutenção, e um dos compressores dos tanques de arejamento não estava em funcionamento, a microfauna foi afetada, o que corrobora com a bibliografia já existente, a qual associa a dominância de ciliados sésseis à ocorrência de fenómenos transitórios.

Já os móveis de fundo apareceram, pela primeira vez, na quarta amostra analisada (10 de maio), tornando-se predominantes a partir do dia 12 de junho, inclusive.

Relativamente aos ciliados nadadores apenas foram registados nas duas primeiras amostras (17 e 24 de abril) e, mais tarde, na amostra de 26 de junho.

A existência tanto dos ciliados sésseis como dos móveis de fundo é um bom sinal, pois segundo Madoni (1994)<sup>[5]</sup> estes 2 grupos funcionais são considerados essenciais para o bom funcionamento de um sistema de lamas ativadas, e a sua abundância representativa de uma elevada eficiência depurativa. Outros estudos, tal como o realizado por salvadó et al. (1995)<sup>[51]</sup> e Kexin (2008)<sup>[36]</sup>, levaram aos mesmos resultados quanto à predominância de ciliados móveis de fundo e sésseis em sistemas estáveis. De facto, tal como já mencionado anteriormente, foi no período entre 22 de maio e 12 de julho em que se obteve efluentes de melhor qualidade, ao nível da concentração de CBO<sub>5</sub>, CQO e SST, correspondendo o dia 22 de maio ao início do estabelecimento e permanência desde então, dos móveis de fundo nas lamas ativadas, para além da já existência de ciliados sésseis. É no entanto curioso, o facto de nas três últimas amostragens do mês maio (dias 22, 24 e 29), ainda serem dominantes os ciliados sésseis, o que seria de esperar um efluente de baixa qualidade.

## 4.2.2 Abundância média das espécies de protozoários e de pequenos metazoários

A abundância média das diversas espécies encontradas nas lamas ativadas da ETAR de Gaia Litoral, durante o período de estudo, assim como os respetivos máximos e frequência (percentagem de amostras em que uma determinada espécie foi encontrada) estão evidenciados na tabela 12. Como se pode ver, as espécies com uma densidade média e máxima superior foram a *Aspidisca lynceus* (22%, 72.2%), *Acineria uncicata* (18.3%, 60.8%) e *Vorticella convallaria* (14.4%, 62.9%), indicadoras de condições estáveis nos tanques de arejamento, *Epistylis* spp. (26%, 87.1%), indicadora de efluentes de elevada qualidade e condições estáveis e, ainda, *Opercularia* spp. (59.3%, 75.9%), indicadora de oxigenação insuficiente e elevadas cargas orgânicas nos tanques de arejamento. Já as mais frequentes foram a *Arcella* sp. (80%), associada, geralmente, a boa oxigenação e condições nitrificantes, *Aspidiscas cicada* (76%) e *Aspidisca lynceus* (74%), a *Acineria uncicata* (80%), *Vorticella convallaria* (96%), *Epistylis* sp. (92%) e, ainda, a *Tokophrya* spp (68%), esta última associada, também, a boas condições de depuração.

A denominação de flagelado 1 e suctória 1 foi devida à impossibilidade de identificação relativamente ao género sendo, por isso, classificados consoante o seu meio de locomoção, morfologia e localização. O mesmo ocorreu com os metazoários, pelo que estes foram identificados, apenas, ao nível do filo.

Tabela 12 – Abundância média e máxima e frequência das espécies de protozoários observadas nas lamas ativadas ao longo do estudo

Grupos	Espécies	Abundância (%)		Frequência (%)
		Média	Máximo	
Grandes flagelados	<i>Euglena</i> sp.	1,0	1,0	4
	<i>Peranema</i> sp.	2,0	5,6	20
	Flagelado 1	0,8	3,5	48
Amibas com teca	<i>Arcella</i> sp.	1,1	5,5	80 <sup>2</sup>
	<i>Euglypha</i> sp.	0,3	0,4	8
Ciliados (Nadadores)	<i>Colpidium</i> sp.	8,8	11,6	8
	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	8,2	15,9	8

Ciliados (Móveis de fundo)	<i>Drepanomonas revoluta</i>	5,7	18,2	44
	<i>Aspidisca cicada</i>	8,0	32,7	76 <sup>2</sup>
	<i>Aspidisca lynceus</i>	22,0 <sup>1</sup>	72,2	64 <sup>2</sup>
	<i>Euplotes patella</i>	8,5	22,3	60
	<i>Acinertia uncinata</i>	18,3 <sup>1</sup>	60,8	80 <sup>2</sup>
Ciliados (Sésseis)	<i>Vorticella microstoma</i>	4,2	8,4	60
	<i>Vorticella infusionum</i>	3,7	4,8	8
	<i>Vorticella aquadulcis</i>	5,0	12,3	48
	<i>Vorticella convallaria</i>	14,4 <sup>1</sup>	62,9	96 <sup>2</sup>
	<i>Epistylis</i> sp.	26,0 <sup>1</sup>	87,1	92 <sup>2</sup>
	<i>Opercularia</i> sp.	59,3 <sup>1</sup>	75,9	12
Ciliados carnívoros	<i>Acineta</i> sp.	0,5	0,5	4
	<i>Podophrya</i> sp.	3,6	23,3	40
	<i>Tokophrya</i> sp.	3,3	14,1	68 <sup>2</sup>
	Suctorina 1	8,9	8,9	4
Metazoários	Rotífero	0,01	0,01	4
	Nemátodo	1,1	4,1	32

1 Densidades médias superiores

2 Frequências médias superiores

#### 4.2.3 Abundância relativa das espécies de protozoários observados nas lamas ativadas

Como se pode ver na figura 12, no início do estudo (final do mês de abril) as *Opercularias* spp. eram predominantes, existindo, também, alguns ciliados nadadores (*Tetrahymena pyriformis* e *Colpidium* sp.) e, a muito baixas densidades, as espécies *V. convallaria*, *V. microstoma* e *V. infusionum*.

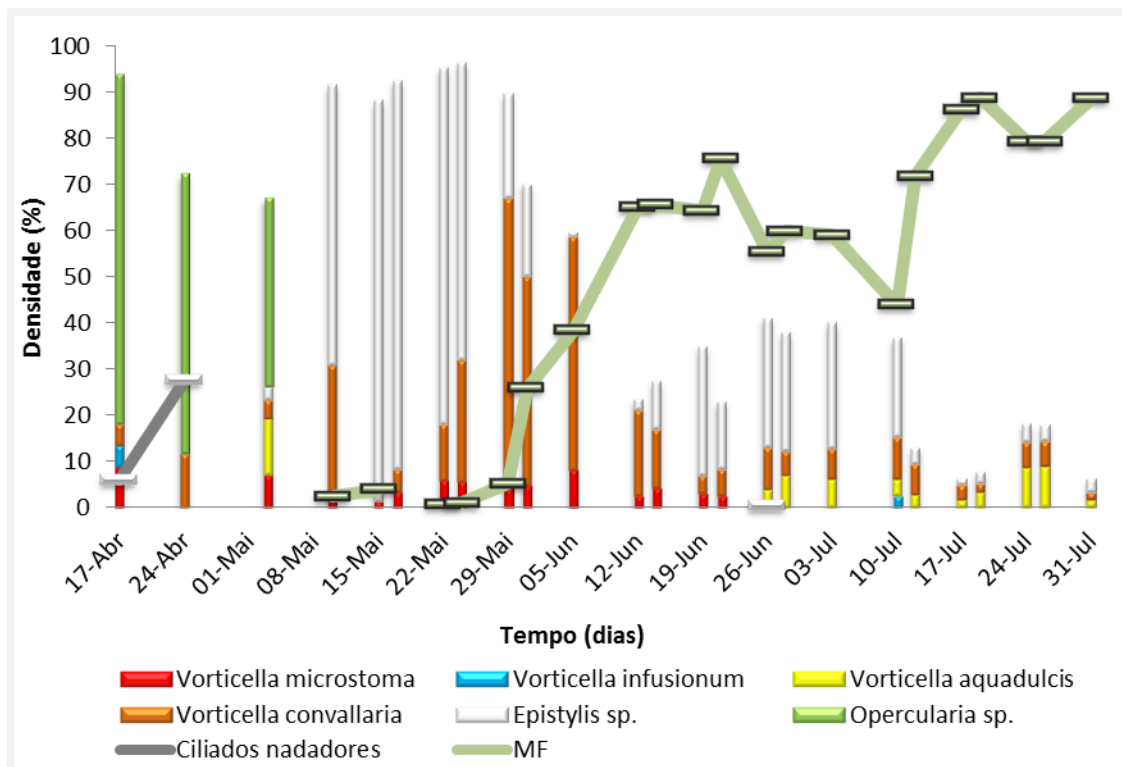


Fig. 12 – Evolução da densidade relativa das espécies de cílios sésseis e dos grupos funcionais de cílios nadadores e móveis de fundo, encontrados nas lamas ativadas, em função do tempo.

Mais uma vez, estes resultados demonstraram uma associação com o período de manutenção da ETAR de Gaia Litoral, podendo estes serem explicados com base na dinâmica de colonização da microfauna, já explicado por Madoni (1994)<sup>[5]</sup>. No início deste estudo, a microbiologia encontrava-se num período de recuperação, com o aumento dos níveis de OD e desenvolvimento dos flocos. Deste modo, ainda foram observados alguns cílios nadadores e uma elevada densidade de *Opercularia* spp., pois ambos são mais resistentes a baixos níveis de OD. No entanto, os cílios sésseis, como são filtradores mais eficientes, ganham na competição por bactérias dispersas com os cílios nadadores. Há medida que se foi avançando no estudo, verificou-se o aparecimento dos móveis de fundo, e o declínio dos nadadores e sésseis, sendo que no final de julho já se encontrou uma microfauna com uma composição e estrutura refletora das condições relativamente estáveis, existentes nos tanques de arejamento.

A partir do início do mês de maio, *Opercularia* spp. deixou de existir, não voltando a reaparecer, tornando-se dominante *Epistylis* sp., atingindo uma densidade máxima de 84% na amostragem a meio do mês. Nas duas últimas amostragens (29 e 31 de maio) e na primeira do mês de junho, a espécie *V. convallaria* tornou-se

predominante. No entanto, ambas as espécies continuaram a ser observadas nas amostras seguintes analisadas, mas a uma densidade inferior. Tanto uma como a outra são menos tolerantes à depleção de oxigénio do que *Opercularia* spp., daí que o desenvolvimento destas se tenha iniciado, essencialmente, a partir do dia 3 de maio, altura em que todos os compressores já estavam em funcionamento. Na mesma altura, houve o aparecimento das amibas com teca (*Arcella* sp.), as quais estão, também, associadas a elevadas concentrações de OD nas lamas ativadas, segundo Madoni et al. (1993)<sup>[50]</sup>.

Distinguem-se, assim, três fases distintas na evolução da microfauna. A primeira correspondente às três primeiras amostragens (17 e 24 de abril e 3 de maio), com a predominância de *Opercularia* spp., e existência de ciliados nadadores. A segunda, caracterizada pelo elevado número de ciliados sésseis (densidade superior a 80%), essencialmente *Epistylis* spp. e *Vorticella convallaria*, ocorreu em maio, durando todo o mês. Por fim, a terceira e última fase teve início em junho, persistindo até ao final do estudo (final de julho). Esta foi assinalada pelo desenvolvimento dos móveis de fundo, codominando com os sésseis.

Nas figuras 13 e 14 estão expostas as fotografias de alguns protozoários, obtidas com o microscópio ótico em uma ampliação de 200x, em campo claro.

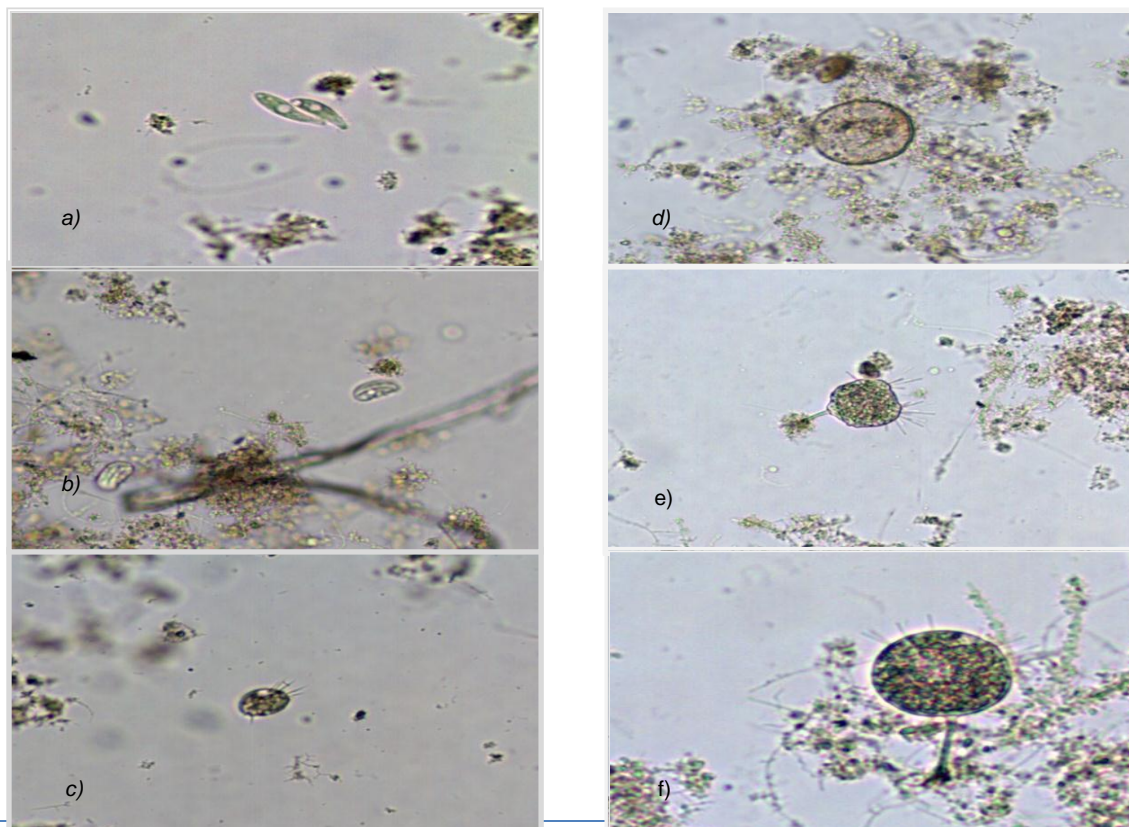


Fig 13 – Alguns protozoários identificados nas amostras de lamas ativadas ao longo do estudo. a) *Acineria uncicata* (móvel de fundo); b) *Drepanomonas revoluta* (Móvel de fundo); c) *Aspidisca lynceus* (móvel de fundo); d) *Arcella* sp. (amiba com teca); e) *Tokophrya* sp. (ciliado carnívoro); f) *Podophrya* sp. (ciliado carnívoro). Ampliação 200x, campo claro.



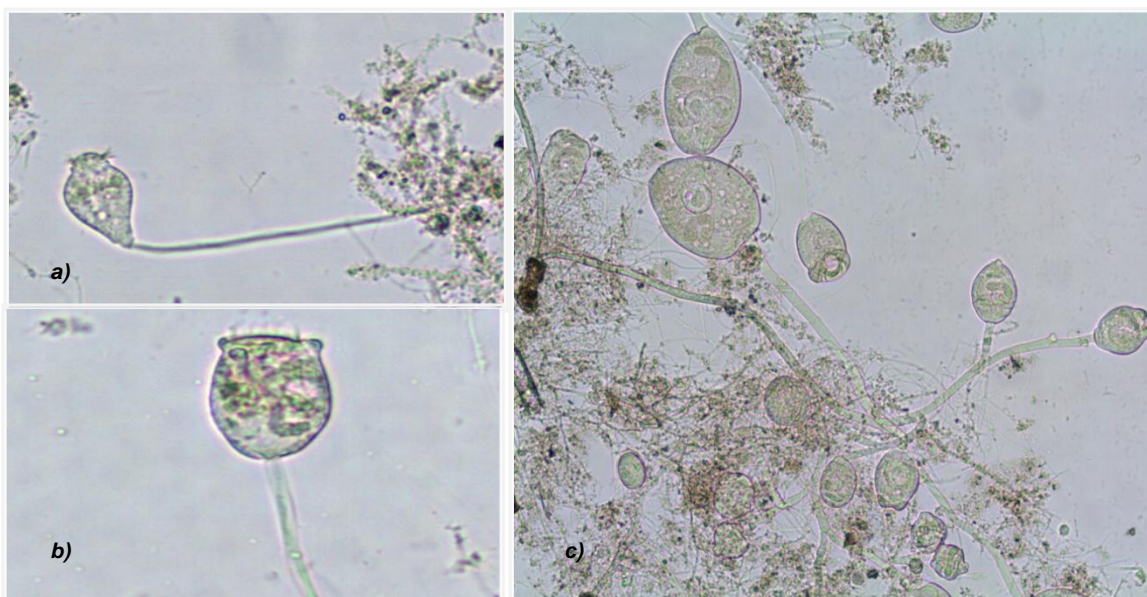
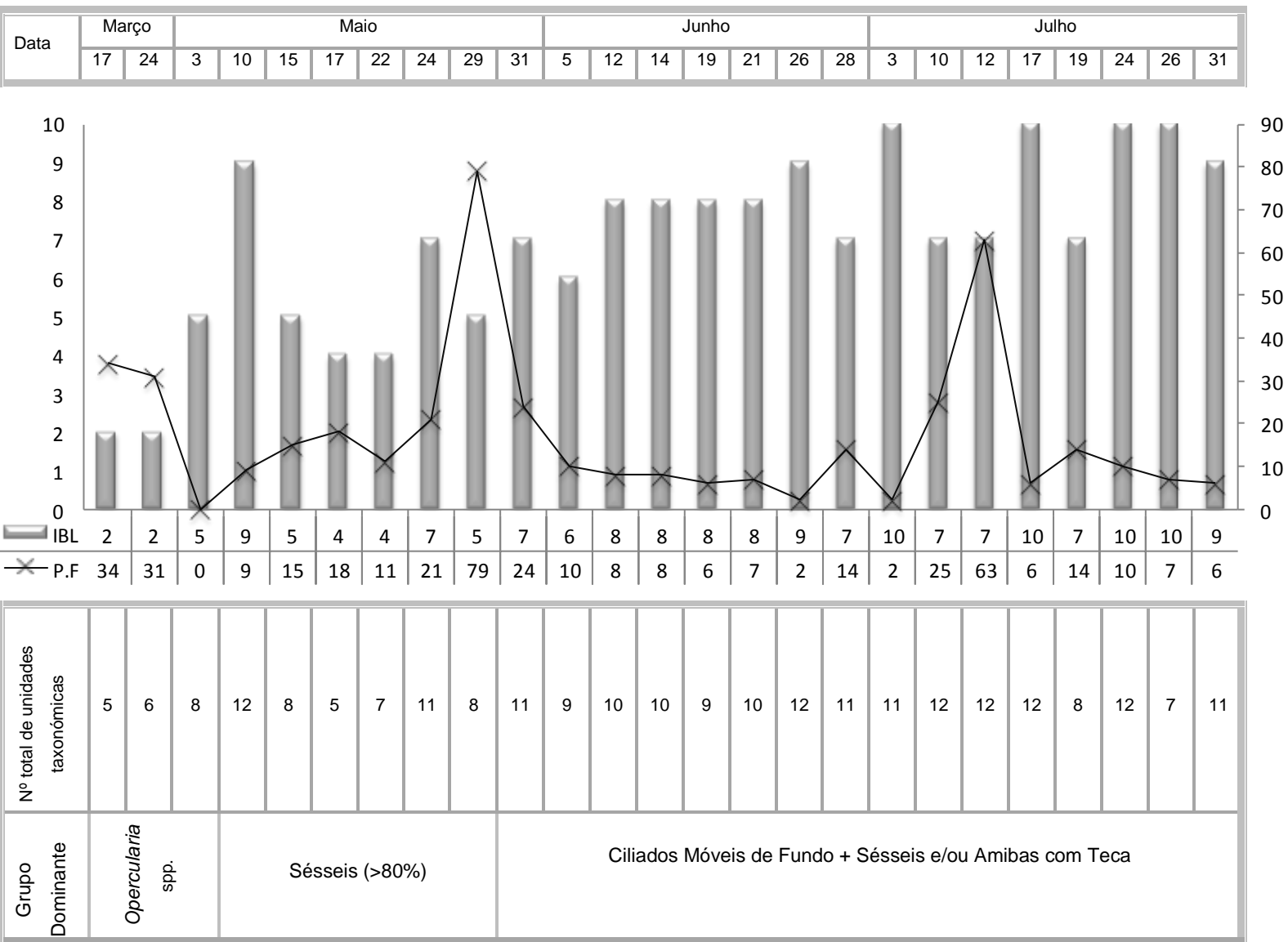


Fig. 14 – Alguns protozoários ciliados sésseis identificados nas amostras de lamas ativadas ao longo do estudo. a) *Vorticella aquadulcis*; b) *Vorticella convallaria*; c) *Epistylis* sp. Ampliação 200x, campo claro.

#### 4.2.4 Evolução do IBL

A evolução do IBL, calculado com base na composição da microfauna, em função do tempo, está exposta na figura 15, assim como os valores relativos às unidades taxonómicas, o número de pequenos flagelados no seu total e, ainda, o grupo dominante em cada amostra.



P.F. – Pequenos flagelados

Fig. 15 - Análise do IBL determinado para cada amostra analisada ao longo do estudo.

Verifica-se, assim, que o IBL variou entre 2 (classe IV) a 10 (classe I), pelo que o efluente se encontrou em diferentes graus de qualidade ao longo deste estudo.

Segundo Madoni (1994)<sup>[5]</sup>, um IBL correspondente à classe de qualidade IV (0-3), traduz uma eficiência depuradora muito baixa, assim como a atividade biológica. Estes valores apenas se verificaram no início do estudo, estando de acordo com o período de manutenção da ETAR, pelo que se registou um elevado número de pequenos flagelados, um reduzido número de unidades taxonómicas, e a *Opercularia*



spp. como espécie dominante. Daí se ter observado valores superiores de SST e CQO no efluente final comparativamente às concentrações obtidas nas restantes amostragens, uma vez que estas espécies estão associadas a um decréscimo da eficiência depurativa. Mesmo assim, estes não excederam os valores de descarga permitidos.

A partir do mês de abril, tal condição não se voltou a verificar, mas o IBL chegou a variar entre 5 e 4 (classe de qualidade III) nas amostragens dos dias 15 e 29 de maio, devido a um aumento do número de pequenos flagelados. Para além destes fenómenos, ocorreu uma diminuição do número de espécies nas amostragens dos dias 17 e 22 de maio. Tal acontecimento pode ter sido devido ao aumento da carga orgânica, o que proporcionou o crescimento dos pequenos flagelados. No entanto, não foi detetada uma redução significativa da qualidade do efluente.

Foi essencialmente no mês de junho e julho que se obteve um IBL superior, variando este entre 7-10 na maioria das vezes, correspondente, por isso, a uma classe de qualidade entre II e I. Os sésseis deixaram de ser dominantes, as lamas estavam bem colonizadas e estáveis, com uma eficiência depuradora a variar entre suficiente e elevada, e uma atividade biológica suboptimal a ótima. A ocorrência de uma maior diversidade de espécies de protozoários nos meses mais quentes poderia levar à hipótese deste aumento dever-se ao efeito da temperatura. No entanto, como os sistemas de lamas ativadas são precisamente reconhecidos pela sua estabilidade face às variações da temperatura e como os tanques da ETAR são cobertos, pôs-se de lado esta hipótese.

### 4.3 Caracterização da comunidade de bactérias filamentosas nas ETAR de Gaia Litoral

No que respeita à identificação e caracterização das bactérias filamentosas nas Lamas Ativadas da ETAR de Gaia Litoral, a análise de preparações de colorações Gram e Neisser, para além das preparações a fresco, foi iniciada a 17 de abril, tendo-se realizado, até ao final de julho, 26 amostragens.

Neste estudo foram observadas 17 espécies ou morfotipos de bactérias filamentosas no total, mas destas, apenas quatro foram encontradas em dominância ou codominância em pelo menos uma das amostras analisadas. Em média, por amostragem, foram identificadas 6 espécies ou morfotipos de bactérias filamentosas.

As categorias de abundância dos organismos filamentosos encontrados variaram entre 1 (“alguns”) e 5 (“abundantes”), sendo 1 e 2 as mais comuns na maioria das espécies, com exceção das dominantes.

Na figura 16 estão expostas as fotografias tiradas a uma das preparações de coloração Gram, evidenciando algumas bactérias filamentosas encontradas nas Lamas Ativadas, em campo claro, com uma ampliação de 1000x.

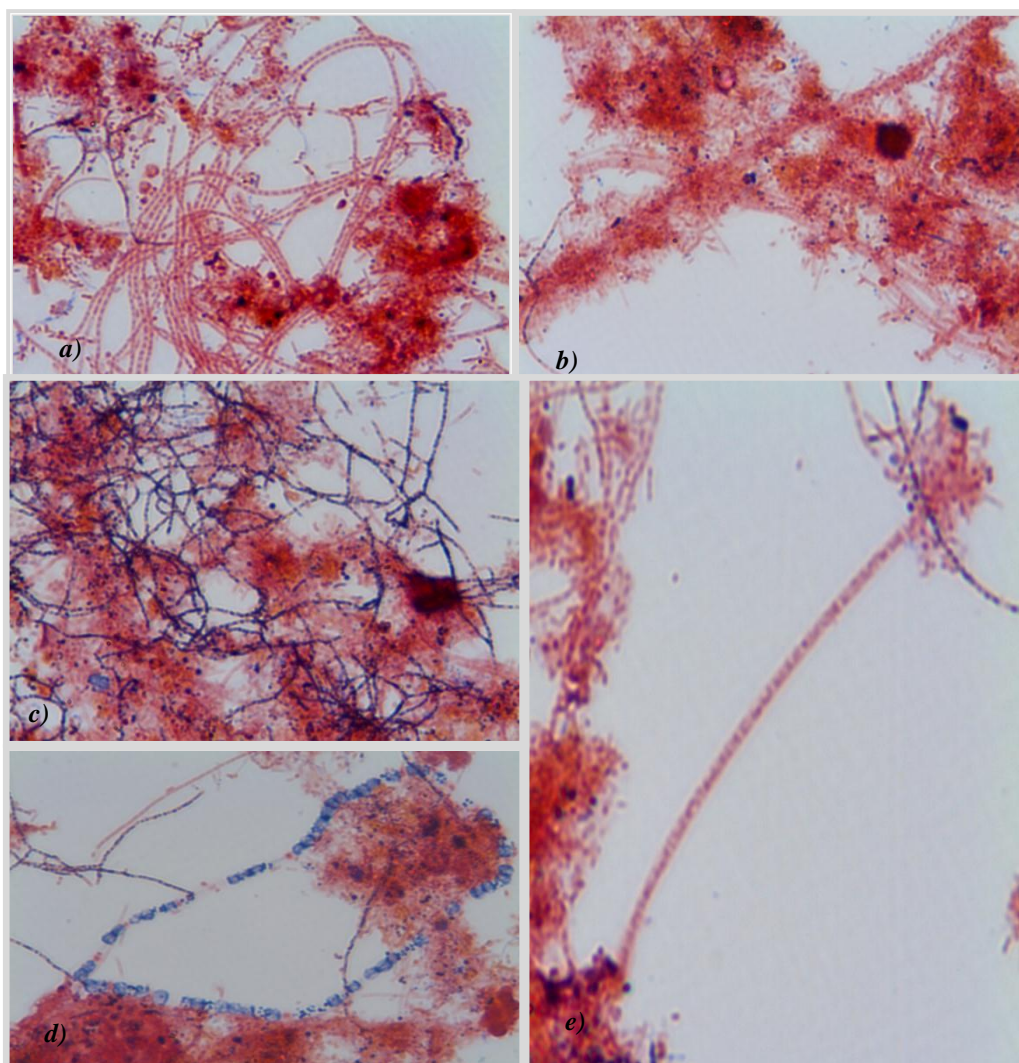


Fig. 16 – Algumas das bactérias filamentosas encontradas nas lamas ativadas da Etar de Gaia Litoral durante o estudo. a) Tipo 0914; b) Tipo 0041/0675; c) *Nocardia* sp.; d) *Nostocoida limicola* III; e) *Thiotrix* I

### 4.3.1 Bactérias filamentosas observadas ao longo do estudo

Na tabela 13 estão indicados os valores médios, máximos e mínimos das categorias de abundância das bactérias filamentosas encontradas nos tanques de arejamento da ETAR de Gaia Litoral.

É de referir que o Tipo 0041 e Tipo 0675 foram agrupados, uma vez que estes organismos são relativamente semelhantes, apenas diferindo no tamanho das células e do tricoma, além disso, são ambos afetados pelos mesmos fatores de crescimento, sendo considerados recentemente variações dum mesmo organismo.

Tabela 13 – Média, máximo e mínimo das categorias e frequência dos organismos filamentosos encontrados nos tanques de arejamento

Organismos filamentosos	Média	Máximo	Mínimo	Frequência (%)
<b>Tipo 0041/0675</b>	3	4	2	100
<i>Nocardia</i> sp.	4	5	1	88
<b>Tipo 0092</b>	3	4	1	65
<i>Haliscomenobacter hydrossis</i>	2	3	1	58
<b>Tipo 1863</b>	2	4	1	54
<b>Tipo 0914</b>	4	4	2	38
<b>Tipo 1701</b>	2	2	1	38
<b>Tipo 021N</b>	1	2	1	23
<i>Nostocoida limicola II</i>	1	2	1	19
<b>Tipo 0581</b>	1	1	1	15
<b>Tipo 1851</b>	2	3	1	15
<i>zooglea</i>	2	2	1	15
<i>Nostocoida limicola III</i>	1	1	1	8
<i>Nostocoida limicola I</i>	1	1	1	4
<i>Thiothrix II</i>	2	2	1	8
<i>Thiothrix I</i>	1	1	1	4
<b>Tipo 1702</b>	1	1	1	4
<i>Microthrix parvicella</i>	1	1	1	4

As bactérias filamentosas mais frequentes ao longo do estudo foram o Tipo 0041/0675 (100%), *Nocardia* sp. (88%), Tipo 0092 (65%) e *Haliscomenobacter hydrossis* (58%).

Pela análise da tabela 13 e da figura 17, verifica-se que o Tipo 0041/0675 foi observado em todas as amostras, tendo sido encontrados, geralmente, 1 a 5

filamentos por floco (categoria de abundância 3). Em 12% das amostragens foi dominante, mas apenas com uma categoria de abundância com o valor 3. Esta filamentosa também foi frequentemente observada no estudo desenvolvido por Lacko et. Al (1999)<sup>[52]</sup> além de outros, sendo a sua grande frequência em diversos sistemas de lamas ativadas associada à elevada capacidade de adaptação do Tipo 0041/0675 a uma extensa gama de valores de parâmetros como o pH, temperatura, variações da concentração de OD, etc.

*Nocardia* sp. foi o morfotipo dominante na maioria dos casos (73%), encontrando-se, em média, 5 a 20 filamentos por floco (categoria de abundância 4).

Já o Tipo 0914, cuja presença se tornou constante a partir do dia 3 de julho, apara além de abundante (5 a 20 filamentos por floco, categoria de abundância 4), foi dominante em 8% das amostragens. No entanto, obteve-se em média uma categoria de abundância 3, uma vez que inicialmente existiam poucos filamentos.

Quanto ao Tipo 1863, com uma frequência de 54%, foram encontrados alguns, mas não muitos, filamentos por amostra (categoria de abundância entre 1 e 2), tendo sido, em duas amostragens (8%), dominante (categoria de abundância 2 e 4).

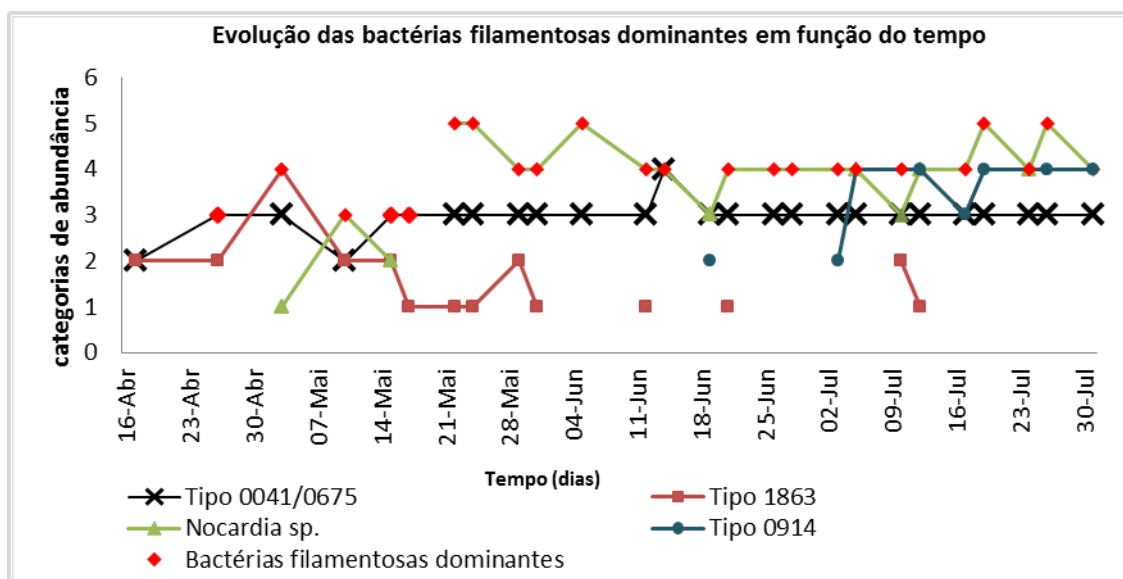


Fig. 17 - Evolução das bactérias filamentosas encontradas em dominância em pelo menos uma amostra ao longo do tempo

É de referir que, por vezes, foram observadas espumas à superfície dos tanques biológicos, principalmente nos dias com temperaturas ambientais mais elevadas. Estas foram causadas, essencialmente, por *Nocardia* spp..

#### 4.3.2 Causas do crescimento filamentoso na ETAR de Gaia Litoral

Notou-se uma evolução positiva relativamente ao desenvolvimento de organismos filamentosos nas lamas ativadas.

Relativamente à estrutura dos flocos, a análise microscópica das amostras de lamas ativadas da ETAR de Gaia Litoral evidenciou uma estrutura frágil, pequena e irregular dos flocos de malha larga, estando a biomassa desfragmentada e dispersa ao longo de todo o estudo. Contudo, verificou-se uma ligeira evolução relativamente ao tamanho dos flocos, os quais no final do estudo já estavam um pouco mais compactos e de maiores dimensões. Daí o crescimento e desenvolvimento progressivo das filamentosas associadas aos flocos e de bactérias formadoras de flocos, como *Zooglea*.

Relembrando a fase 1 (17 de abril a 3 de maio), denominada no ponto 4.2.3 deste capítulo, a qual se destacou pela presença de protozoários como *Opercularia* spp., ciliados nadadores e pequenos flagelados, evidenciando as baixas concentrações de OD nos tanques biológicos, verifica-se que apenas o Tipo 1863 e *Nostocoida limícola* II, de entre todas as bactérias filamentosas encontradas nesse período (tabela 14), estão associadas a baixas concentrações de OD. No entanto, a primeira teve um pico máximo na amostragem do dia 3 de maio, na qual foi dominante, estando este associado ao valor mínimo da taxa A/M obtido durante todo o estudo, sendo que, em geral, a sua abundância foi superior em dias de menor taxa A/M. De facto, é de reparar que este foi o principal fator que condicionou o crescimento das bactérias filamentosas. *Nostocoida limícola* II foi observada na primeira e na terceira amostra analisada (17 de abril e 3 de maio), sendo que esta é considerada como uma espécie resistente a baixo teor de oxigénio. Outro fator que favorece o seu crescimento é a baixa taxa A/M, o qual se verificou neste estudo. Apesar de aparecer esporadicamente, esta foi observada em efluentes com baixa carga orgânica (0.14-0.22 kg CBO/kg SST/d).

Já o Tipo 0041/0675 apareceu em todas as amostras e o seu crescimento foi afetado, essencialmente, pela idade das lamas, para além da taxa A/M. Esta foi dominante, com maior valor de abundância, no dia em que se obteve o valor mais elevado de idade das lamas e o menor da taxa A/M (0.15) durante todo o período de estudo.

Na fase 2 (mês de maio), verificou-se um aumento na diversidade de organismos filamentosos, destacando-se a dominância alternada de *Nocardia* sp., e do Tipo 0041/0675, esta última com menor frequência. A dominância de *Nocardia* sp. pela primeira vez coincidiu com o aparecimento dos ciliados móveis de fundo e com o

aparecimento do Tipo 21 N, associados a um aumento da carga orgânica no dia 10 de maio (Taxa A/M com um valor de 0.29 kg CBO/kg SST/d). Já no dia 17 de maio, registaram-se elevadas temperaturas ambientais, pelo que houve uma redução dos níveis de OD. Daí a causa possível para o reaparecimento do Tipo 1701, e para o crescimento de *Nocardia* sp., tornando-se esta abundante (categoria de abundância 5). Na amostra do dia 24 de maio observou-se, pela primeira vez, *Haliscomenobacter hydrossis*, a partir do qual se tornou frequente.

A última fase, correspondente ao mês de junho e julho, ficou caracterizada pelo elevado número de espécies filamentosas, pela dominância da *Nocardia* spp., pelo aumento da abundância do Tipo 0092 e pelo aparecimento no dia 3 de julho do Tipo 0914, a partir do qual se tornou comum e abundante. A causa do seu aparecimento pode estar associada às elevadas temperaturas registadas no mês de julho, às baixas taxas A/M e elevadas idades das lamas, e a águas residuais sépticas, respetivamente.

Na tabela 14 são apresentadas todas as filamentosas observadas em cada fase.

Tabela 14 – Bactérias filamentosas observadas em cada fase de amostragens

	Fase 1	Fase 2	Fase 3
Período	(17 de abril - 03 de maio)	10 a 31 de maio	5 de junho - 31 de julho
	Tipo 0041/0675	Tipo 0041/0675	Tipo 0041/0675
	Tipo 1851	Tipo 0092	Tipo 0092
	Tipo 1863	Tipo 1701	Tipo 0581
Bactérias	Nostocoida limicola II	Tipo 1863	Tipo 0914
Filamentosas	Nostocoida limicola III	Nocardia spp.	Tipo 1701
	Nocardia spp.	Nostocoida limicola I	Tipo 1702
		Haliscomenobacter hydrossis	Tipo 1851
			Tipo 1863
			Tipo 021N
			Thiothrix II
			Nocardia spp.
			Microthrix parvicella
			Nostocoida limicola II
			Nostocoida limicola III
			Haliscomenobacter hydrossis

## 4.4 Correlações entre os dados das comunidades biológicas e os parâmetros físico-químicos e operacionais na ETAR de Gaia Litoral

A análise dos resultados das correlações de Kendall entre os parâmetros físico-químicos, operacionais e a microfauna observada ao longo do estudo foi efetuada de modo a identificarem-se possíveis relações entre estes.

### 4.4.1 Protozoários

Tal como ocorrido no estudo desenvolvido por Dubber e Gray (2011)<sup>[53]</sup>, não se conseguiu estabelecer uma correlação entre a composição específica do licor misto e a CBO<sub>5</sub> do efluente final.

Apesar de diversos estudos terem permitido relacionar determinadas espécies ou grupos de ciliados com a qualidade do efluente final em termos de CBO<sub>5</sub>, nenhuma correlação entre a densidade total dos grupos funcionais e espécies de protozoários com o CBO<sub>5</sub> do efluente final foi obtida, com a exceção da *Vorticella convallaria* ( $r = -0.334$ ,  $p < 0.05$ ). Segundo Dubber e Gray (2011)<sup>[53]</sup>, tal facto pode ser devido à estreita gama de CBO<sub>5</sub> no efluente final da ETAR em estudo, embora no presente estudo a CBO<sub>5</sub> tenha variado numa gama relativamente alargada, entre 40 e 8.0 mg/l.

Nas tabelas 15 e 16 estão patentes os coeficientes de correlação de Kendall entre a densidade total e a densidade específica relativa dos protozoários e pequenos metazoários observados nas lamas ativadas e os parâmetros físico-químicos e operacionais do licor misto e efluente final da ETAR de Gaia Litoral.

A tabela 17 contém os coeficientes de correlação entre a densidade total dos protozoários e pequenos metazoários e as eficiências de remoção de CBO<sub>5</sub>, CQO, SST e nutrientes (N total, PO<sub>4</sub>) e entre a densidade relativa dos protozoários e pequenos metazoários e a concentração N-NH<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>-N.



Tabela 15 - Coeficientes de correlação entre a densidade total das espécies de protozoários e pequenos metazoários os parâmetros físico-químicos e operacionais da Etar de Gaia Litoral

	Tanque de arejamento			Efluente							
Unidade taxonómica	SST	NO3 T2	IVL	SST	CBO5	CQO	NH4	NO3-N	N total	P-PO4	Taxa A/M
<i>Euglena</i> sp.						0,335*					
Flagelado 1	0,414**	-0,290*									-0,325*
<i>Arcella</i> sp.				-0,295*							-0,421**
<i>Colpidium</i> sp.		0,401**	-0,345*			0,369**					
<i>Tetrahymena pyriformis</i>		0,315*						0,292*			
<i>Drepanomonas revoluta</i>	0,310*	-0,389**	0,359*				0,302*		0,505***		
<i>Aspidisca cicada</i>		-0,450**									
<i>Aspidisca lynceus</i>	0,292*	-0,364*	0,406**								
<i>Euplotes patella</i>	0,329*	-0,394**									
<i>Acineria uncinata</i>	0,456**	-0,471***									
<i>Vorticella microstoma</i>						-0,333*	-0,356*		-0,497***		
<i>Vorticella infusionum</i>								0,292*			
<i>Vorticella aquadulcis</i>							0,347*		0,430**		
<i>Vorticella convallaria</i>				-0,479***	-0,334*	-0,414**					
<i>Epistylis</i> sp.											
<i>Opercularia</i> spp.	-0,299*	0,457**	-0,410**			0,305*					
<i>Acineta</i> sp.										-0,286*	
<i>Nematode</i>	-0,385**			-0,571***		-0,584***	-0,323*				
Rotífero		-0,281*			-0,291*						

\*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\* P < 0.001



Tabela 16 - Coeficientes de correlação entre a densidade relativa das espécies de protozoários e pequenos metazoários os parâmetros físico-químicos e operacionais da Etar de Gaia Litoral

	Tanque de arejamento			Efluente							
Unidade taxonómica	SST	NO3 T2	IVL	SST	CBO5	CQO	NH4	NO3-N	N total	P-PO4	Taxa A/M
<i>Euglena</i> sp.									-0,286*	0,286*	
<i>Peranema</i> sp.											-0,379**
Flagelado (n.i.)	0,387**										-0,458**
<i>Colpidium</i> sp.		0,401**	-0,386**			0,369**					0,305*
<i>Tetrahymena pyriformis</i>		0,315*						0,292*			
<i>Drepanomonas revoluta</i>	0,315*	-0,349*	0,491***						0,508***		-0,800***
<i>Aspidisca cicada</i>		-0,400**									
<i>Aspidisca lynceus</i>		-0,335*	0,482***								-0,626***
<i>Euplotes patella</i>	0,329*	-0,312*									-0,327*
<i>Acineria uncinata</i>	0,475***	-0,365*									-0,589***
<i>Vorticella microstoma</i>			-0,365*						-0,405**		0,633***
<i>Vorticella aquadulcis</i>			0,317*				0,322*		0,412**		-0,497***
<i>Vorticella convallaria</i>				-0,363*		-0,391**			-0,296*		
<i>Opercularia</i> spp.	-0,299*	0,457**	-0,459**			0,305*					0,377*
<i>Nematode</i>	-0,316*			-0,469**		-0,404**	-0,289*				

\*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\* P < 0.001

Tabela 17 - Coeficientes de correlação entre a densidade total das espécies de protozoários e pequenos metazoários com as eficiências de remoção de CBO<sub>5</sub>, CQO, SST e nutrientes (N total, PO<sub>4</sub>) e entre a densidade relativa das espécies de protozoários e pequenos metazoários com a concentração N-NH<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>-N

Unidade taxonómica	Densidade total					Densidade relativa	
	% Remoção SST	% Remoção CBO <sub>5</sub>	% Remoção CQO	% Remoção PO <sub>4</sub>	% Remoção N total	% Remoção NH <sub>4</sub>	% Remoção N-NO <sub>3</sub>
<i>Euglena</i> sp.		-0,328*	-0,379**				
<i>Euglypha</i> sp.					0,342*		
<i>Colpidium</i> sp.			-0,379**				
<i>Drepanomonas revoluta</i>	0,391**						
<i>Acineta uncinata</i>	0,293*						
<i>Vorticella microstoma</i>	-0,422**						
<i>Vorticella aquadulcis</i>	0,308*	0,363*					
<i>Vorticella convallaria</i>	-0,301*	0,281*	0,457**				
<i>Epistylis</i> sp.		0,329*	-0,329*				-0,285446*
<i>Opercularia</i> spp.			-0,424**				
<i>Acineta</i> sp.				0,283*			
Nematode	-0,493***		0,448**				0,347821*
Rotífero		0,283*				0,306786*	

\*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\* P < 0.001

O flagelado 1 demonstrou uma correlação positiva com os SST dos tanques de arejamento, e uma associação negativa com a taxa A/M, com um coeficiente de correlação de 0.414 e -0.325, respetivamente. Não tão significativa foi a correlação negativa obtida entre o flagelado 1 e os nitratos do tanque de arejamento. Obteve-se, ainda, um coeficiente de correlação positivo entre a *Euglena* sp. com a CQO do efluente final. Já as correlações entre a densidade relativa e os parâmetros físico-químicos evidenciaram uma correlação negativa entre a *Euglena* sp. e a concentração de azoto total no efluente final e um coeficiente de correlação positivo com a concentração de fósforo total no efluente final, apesar de não muito significativas. Poder-se-ia, deste modo, concluir que a *Euglena* sp. é uma espécie indicadora de elevadas concentrações de fósforo. No entanto, não foi encontrada qualquer trabalho com o mesmo resultado. Além disso, o coeficiente de correlação obtido não foi muito significativo ( $p < 0.05$ ).

Tal como demonstrado em vários estudos, neste trabalho os flagelados demonstraram ser, também, indicativos de uma má eficiência do processo depurativo, uma vez que estão associados a elevadas concentrações de SST nos tanques de arejamento e elevados valores de CQO e azoto total no efluente final. Para além disso, obtiveram-se associações negativas entre a densidade total da *Euglena* sp. com a eficiência de remoção de CBO<sub>5</sub> ( $r=-0.328$ ,  $p<0.05$ ) e CQO ( $r=-0.379$ ,  $p<0.01$ ). No entanto, relativamente à eficiência de remoção de nutrientes, não foi obtida qualquer relação com a densidade de flagelados.

Relativamente às amibas, obteve-se um coeficiente de correlação negativo entre a densidade de *Arcella* sp. e os SST no efluente final, assim como com a taxa A/M, o que corrobora com o estudo efetuado por Madoni et al. (1993)<sup>[50]</sup>, o qual associou as amibas com teca com baixas concentrações de azoto amoniacal, elevados valores de SST e baixos valores de carga orgânica e IVL, evidenciando a correlação deste grupo com as condições nitrificantes e, em geral, com a boa performance da ETAR. No entanto, nenhuma relação significativa entre as amibas e as condições nitrificantes foi observada neste estudo. A baixa gama de NH<sub>4</sub> no efluente e NO<sub>3</sub> nos tanques de arejamento, pode ter sido a causa para não se ter obtido uma correlação entre estes.

Os ciliados nadadores, tanto *Colpidium* sp., assim como *Tetrahymena pyriformis*, tiveram uma correlação positiva com a concentração de nitratos nos tanques de arejamento, 0.401 ( $P<0.01$ ) e 0.315 ( $P<0.05$ ), respetivamente. *Tetrahymena pyriformis* teve, ainda, uma associação positiva com os nitratos no efluente final, mas não muito significativa ( $r=0.292$ ,  $P<0.05$ ). Já *Colpidium* sp. demonstrou uma correlação significativa com a CQO ( $r=0.369$ ,  $p<0.01$ ) no efluente final, estando de acordo com o coeficiente de correlação obtido entre esta espécie e a eficiência de remoção de CQO, que foi significativamente negativo ( $r=0.379$ ,  $p<0.01$ ). Menos significativa foi a relação obtida entre *Colpidium* sp. e o IVL, mas igualmente com um coeficiente de correlação negativo ( $r=-0.345$ ,  $p<0.05$ ).

Com as densidades relativas das espécies de ciliados nadadores obteve-se, ainda, uma correlação positiva de *Colpidium* sp., com a taxa A/M. De facto, segundo Madoni (1994)<sup>[5]</sup>, os ciliados nadadores necessitam de elevadas concentrações de bactérias dispersas para sobreviverem, dominando muitas vezes na microfauna das lamas ativadas em ETAR com elevada carga orgânica e baixas concentrações de OD.

Quanto aos móveis de fundo, todas as espécies observadas no licor misto demonstraram uma forte associação com a concentração de nitratos nos tanques de arejamento, apresentando todas coeficientes de correlação negativos, tendo sido *Acineria uncicata* a que teve uma correlação mais forte ( $r=-0.471$ ,  $p<0.001$ ). O estudo realizado por Dubber e Fray (2011)<sup>[53]</sup> conduziu à conclusão da associação negativa altamente significativa entre *Aspidisca cicada* e a concentração de nitratos no efluente final, sugerindo que esta associação poderá ser devida ao facto do processo de nitrificação estar relacionado com concentrações superiores de OD nos tanques de arejamento. Estes autores sugeriram, pela interpretação das correlações encontradas no seu estudo, que *Aspidisca cicada* poderia ser tolerante a baixas concentrações de OD. É de realçar que as densidades mais elevadas de *Aspidisca cicada* obtidas corresponderam aos dias 19 de junho e 3 de julho, altura em que se verificou a abundância de *Nocardia* spp., e aparecimento do Tipo 1701. Ambas associadas a baixas concentrações de OD.

No presente estudo, esta espécie teve, ainda, um coeficiente de correlação significativo com a concentração de SST no licor misto ( $r=0.456$ ,  $p<0.01$ ), assim como *Drepanomonas revoluta* e *Euplotes patella*, mas estas duas espécies com uma correlação menos significativa ( $p<0.05$ ). As espécies *Aspidisca lynceus* e *Drepanomonas revoluta* revelaram uma correlação positiva com o IVL. Obteve-se, ainda, uma forte correlação entre esta última e a concentração de azoto total no efluente final ( $r=0.505$ ,  $p<0.001$ ). No entanto, relativamente às eficiências de remoção, apenas foram obtidas associações positivas entre a taxa de remoção de SST e a densidade total de *Drepanomonas revoluta* e *A. cicada*.

Com as densidades relativas, obteve-se correlações mais significativas relativamente ao IVL com as espécies de móveis de fundo. É de realçar os valores dos coeficientes de correlação negativos obtidos entre todas as espécies de móveis de fundo observadas no licor misto e a taxa A/M,, com exceção de *Aspidisca cicada*, podendo a dominância de móveis de fundo ser usada como bioindicador de baixa taxa A/M.

Tal como vários estudos demonstraram, os ciliados móveis de fundo são, geralmente, indicadores de uma elevada eficiência depuradora e bom funcionamento da ETAR. Tyagi et al. (2008)<sup>[54]</sup> observaram que a dominância de ciliados móveis de fundo, como as *Aspidisca* spp., estava associada a uma elevada concentração de SST e a baixos valores de A/M. Também Lee et al. (2004)<sup>[44]</sup> obtiveram coeficientes de correlação negativos entre a densidade de certas espécies de ciliados móveis de

fundo e a taxa A/M, sugerindo esta relação como uma possível explicação para a possível vantagem metabólica na competição pelo substrato.

No grupo dos ciliados sésseis, *V. convallaria*, *V. microstoma* e *Opercularia* sp., evidenciaram coeficientes de correlação significativos entre a densidade total destas com a CQO no efluente final, no entanto, as primeira duas apresentaram uma associação negativa com este parâmetro físico-químico ( $r=-0.414$ ;  $p<0.05$  e  $r=-0.333$ ;  $p<0.01$ , respetivamente), enquanto que com *Opercularia* sp. se obteve uma correlação positiva ( $r=0.305$ ,  $p<0.05$ ). No entanto, as associações obtidas entre a abundância das espécies do grupo de ciliados sésseis com a percentagem de remoção de CQO a nível global apenas se observaram com *Opercularia* sp. e *Vorticella convallaria*, sendo estas muito significativas ( $p<0.01$ ). Madoni et al. (1993) obtiveram correlações negativas entre *V. microstoma* e *Opercularia* sp. e o OD e outras variáveis indicadoras de um efluente de má qualidade. Estes autores verificaram que ambas as espécies estavam associadas a elevados valores de  $\text{CBO}_5$  no efluente final e de  $\text{NH}_4\text{-N}$ , e com baixas concentrações de SST e OD. Daí que *Opercularia* sp. tenha tido uma correlação negativa com a CQO no efluente final. No entanto, não explica a correlação positiva de *V. microstoma* com a CQO do efluente final e percentagem de remoção da mesma.

*Opercularia* sp. demonstrou, ainda, uma associação fortemente negativa com o IVL ( $r=-0.410$ ,  $p<0.01$ ), e menos significativa com a concentração de SST no licor misto ( $r=-0.299$ ,  $p<0.05$ ), e uma correlação positiva altamente significativa com os nitratos no tanque de arejamento ( $r=0.457$ ,  $p<0.01$ ).

Entre a densidade relativa de *Opercularia* sp. e a taxa A/M obteve-se uma associação positiva ( $r=0.377$ ,  $p<0.05$ ). Este resultado corrobora com o trabalho efetuado por Lee et al. (2004) que também obteve uma relação positiva desta espécie com a taxa A/M podendo, assim, servir como bioindicador de elevada taxa de descarga.

Por sua vez, *V. convallaria* apresentou uma correlação negativa muito significativa com a concentração de SST no licor misto, e menos significativa com a  $\text{CBO}_5$ . O mesmo se verificou com as taxas de remoção de SST, sendo positiva a associação entre a eficiência de remoção de  $\text{CBO}_5$  e a densidade total de *V. convallaria*. Sendo assim, tanto esta espécie pode ser um bom indicador da qualidade do efluente em termos de  $\text{CBO}_5$  e CQO.

A densidade total de *V. aquadulcis* demonstrou uma correlação positiva com a concentração de  $\text{NH}_4$  no efluente final, e mais significativa com a concentração de azoto total ( $r=0.430$ ,  $p<0.01$ ). Com a densidade relativa obteve-se, além dos já

mencionados, uma correlação muito significativa com a taxa A/M ( $r=-0.479$ ,  $p<0.001$ ). Também *V. aquadulcis* demonstrou uma correlação positiva com a eficiência de remoção de  $\text{CBO}_5$ , apesar de nenhuma associação com os valores de  $\text{CBO}_5$  do efluente final ter sido obtida.

Foram negativos os coeficientes de correlação encontrados entre a densidade total de *V. microstoma* e a concentração de  $\text{NH}_4$  e azoto total no efluente final, tendo sido fortemente significativo com este último ( $r=-0.497$ ,  $p<0.001$ ). Com a densidade relativa, esta espécie demonstrou uma associação negativa com o IVL, e uma correlação positiva e muito significativa com a taxa A/M, com o  $r=-0.375$ ,  $p<0.05$  e  $r=0.633$ ,  $p<0.001$ , respetivamente.

Apesar de nenhuma correlação com a concentração de  $\text{CBO}_5$ , CQO e nitratos no efluente ter sido observada, *Epistylis* demonstrou uma correlação com a remoção de  $\text{CBO}_5$  ( $r=0.329$ ,  $p<0.05$ ) e CQO ( $r=-0.329$ ) no efluente final e, ainda, entre a densidade relativa da mesma com a eficiência de remoção de nitratos ( $r=-0.285$ ,  $p<0.05$ ), a nível global.

No grupo dos Suctoria, apenas se obteve um coeficiente de correlação negativo entre a densidade total de *Acineta* sp. e a concentração de fósforo no efluente final, mas não muito significativo, para além da associação positiva obtida entre a densidade total desta espécie com a eficiência de remoção de fósforo total a nível global ( $r=0.283$ ,  $p<0.05$ ). No estudo efetuado por Salvadó et al. (1995)<sup>[51]</sup>, também não se obteve nenhuma relação próxima entre os Suctoria e a qualidade do efluente, com a exceção da espécie *Acineta tuberosa*, o qual apareceu apenas em períodos em que o efluente era de alta qualidade. Neste estudo, a *Acineta* sp. pode, apenas, ser associada a efluentes de boa qualidade em termos de fósforo. Mesmo assim, estes resultados são pouco significativos, uma vez que a densidade e frequência desta espécie foram muito baixas ao longo de todo o estudo.

Já as correlações obtidas entre os pequenos metazoários e os parâmetros físico-químicos demonstraram uma associação positiva entre a qualidade do efluente e a densidade de Nematodes e Rotíferos, essencialmente ao nível da remoção de SST e CQO.

Foi curioso ter-se encontrado, por diversas vezes, ciliados sésseis, como *Epistylis* sp., muito enrugados e fechados, para além de muitos Suctoria sem

tentáculos. Tal acontecimento está, geralmente, associado à entrada de tóxicos na ETAR, no entanto, não foram registadas alterações significativas na microbiologia correspondentes a este tipo de disfunção, pelo que não foi possível identificar a sua causa.

#### 4.4.1.1 IBL

Foram determinados os coeficientes de correlação entre o IBL e os parâmetros físico-químicos, mas apenas se obteve uma associação positiva entre o IBL e a eficiência de remoção de  $\text{CBO}_5$  ( $r=0.288$ ,  $p<0.05$ ), como se pode ver na tabela 17. De facto, um IBL com um valor elevado (7 a 9) é indicador de lamas bem colonizadas e estáveis, com excelente atividade biológica e um bom desempenho da ETAR. Daí que, quanto maior o valor de IBL, maior será a percentagem de remoção de  $\text{CBO}_5$  do efluente.

Na tabela 18 estão, ainda, expostos os valores dos coeficientes de correlação entre o IBL e os principais grupos funcionais e espécies de protozoários que, segundo diversos autores, mais influenciam o IBL.

Tabela 18 - Coeficientes de correlação entre o IBL e a eficiência de remoção de  $\text{CBO}_5$ , o número de pequenos flagelados e densidade relativa e total dos grupos funcionais de protozoários e das espécies *Opercularia* sp. e *Vorticella microstoma*.

	% Remoção $\text{CBO}_5$	Nº Pequenos flagelados	Densidade relativa					
			Grandes Flagelados	%S	%MF		<i>Opercularia</i> spp.	<i>Vorticella microstoma</i>
IBL	0,288*	-0,538**	0,329***	-0,485***	0,532***		-0,312*	-0,363*
			Densidade total					
			G. Flagelados		%MF	%A	<i>Opercularia</i> spp.	
IBL			0,429***		0,648***	0,319*	-0,312*	

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$

Tal como verificado no estudo desenvolvido por Madoni (1994)<sup>[5]</sup>, obteve-se uma associação negativa muito significativa entre o IBL e o número de pequenos flagelados contados na câmara de Fuchs-Rosenthal ( $r=-0.538$ ,  $p<0.01$ ). Já com os

grandes flagelados e móveis de fundo, o IBL demonstrou uma correlação positiva sabendo-se, desde já, que quanto maior a diversidade e abundância destes dois grupos de protozoários, melhor será, em princípio, o IBL, desde que não haja dominância de flagelados. A correlação negativa com a densidade total de ciliados sésseis vai de encontro aos resultados obtidos por Madoni (1994)<sup>[5]</sup>, o qual afirma que a qualidade do efluente é superior quando há codominância de sésseis e móveis de fundo, sendo inferior quando os sésseis dominam nas lamas ativadas. Com a densidade total de amibas, obteve-se um coeficiente de correlação com o valor de 0.319,  $p < 0.05$ . Como já foi referido, as amibas são indicadoras de efluentes de alta qualidade daí que se tenha obtido uma associação positiva com o IBL. Já com as espécies *Opercularia* sp. e *V. microstoma* obteve-se coeficientes de correlação negativos com este índice, já que ambas as espécies são indicadoras de efluentes de má qualidade. Resumindo, os dados confirmam os pressupostos do método, mas o facto de se terem obtido correlações relativamente dispersas dos vários grupos com os parâmetros físico-químicos, levou a que também o IBL não se correlacionasse com a maior parte dos parâmetros físico-químicos.

#### 4.4.2 Bactérias filamentosas

Na tabela 18 estão expostos os resultados da análise estatística. Foram obtidos os coeficientes de correlação de Kendall entre a abundância dos organismos filamentosos e os parâmetros físico-químicos e operacionais.

Tabela 19 - Coeficientes de correlação entre a abundância das bactérias filamentosas e os parâmetros físico-químicos e operacionais

	Afluente						
	SST	CBO5	CQO	NH4	NO3-N	Ntotal	P Total
Tipo 0041/0675					-0.288*		
Tipo 0092	0.401**		0.338*	0.418**	-0.275*	0.525***	0.459**
Tipo 0914	0.407**		0.382**	0.545***		0.565***	0.491***
Tipo 1701		-0.288*			-0.509***		
Tipo 1702							
Tipo 1853					0.416**	-0.282*	
Tipo 21N	0.353*	0.295*					0.364**
Haliscomenobacter hydrossis					-0.282*		



Avaliação do desempenho de uma ETAR de lamas ativadas através do estudo das comunidades microbiológicas do licor misto

	Efluente					
	SST	CBO5	CQO	NH4	NO3-N	N total
Tipo 0092						0,302*
Tipo 0581					0,374**	-0,292*
Tipo 0914			0,359*	0,545***		0,587***
Tipo 1701		0,301*				
Tipo 021N		-0,356*			-0,167	
Thiothrix I		0,284*				
Thiothrix II			-0,275*	-0,388**		
Nocardia spp.		-0,303*				
Microthrix parvicella					-0,283*	
Nostocoida limicola II					0,290*	
Haliscomenobacter hydrossis			-0,285*			
	% Remoção SST	% Remoção CBO5	% Remoção CQO	% Remoção N- NO3	% Remoção NH4	% Remoção PO4
Tipo 0092	0,341*					
Tipo 0914	0,439**	0,324*				
Tipo 1701		-0,371**				
Tipo 1702	0,277*			0,429**		
Tipo 1863	-0,308*					
Tipo 021N	0,322*	0,461***				0,283*
Thiothrix II			0,293*			
Nocardia spp.			0,325*			0,285*
Microthrix parvicella				0,466***		
Haliscomenobacter hydrossis			0,280*			
	Tanque biológico					
	SST	NO3	IVL	Taxa A/M	Idade das lamas	
Tipo 0041/0675	0,336*		0,296*		-0,357*	
Tipo 0092	0,460***	-0,362**	0,390**			
Tipo 0581	0,391**				-0,363*	
Tipo 0914		-0,362**	0,373**			
Tipo 1863	-0,301*	0,492***	-0,553***		0,297*	
Thiothrix I	-0,211	0,289*		0,277*		
Nocardia spp.		-0,326*				
Nostocoida limicola II	-0,090		-0,279*			
Haliscomenobacter hydrossis			0,317*		-0,317*	

Analisando-se todas as correlações da tabela 19, verifica-se que o Tipo 0092 e o Tipo 0914, estão associados a elevadas concentrações de SST, CQO e azoto amoniacal e fósforo no afluente. No entanto, a primeira apresentou um coeficiente de correlação negativo com a concentração de nitratos. Trabalhos desenvolvidos por diversos autores demonstraram a frequência do Tipo 0092 em estações onde ocorre nitrificação/desnitrificação. No entanto, tal não se verificou neste trabalho. A causa possível poderá ser o facto de não haver nenhum processo específico para a remoção de azoto na ETAR de Gaia Litoral, podendo ter sido a elevada idade das lamas que levou ao desenvolvimento desta filamentosa. Por outro lado, nenhuma correlação foi obtida com este parâmetro. O Tipo 0092 mostrou ainda uma associação positiva com a percentagem de remoção de SST, com o IVL e com a concentração de SST no tanque biológico. Esta filamentosa, como aliás é referido na literatura, não favorece a sedimentação das lamas.

Já o Tipo 0914 mostrou uma correlação positiva com a percentagem de remoção de SST e CBO<sub>5</sub>, o que pode ser explicável pelo facto das filamentosas serem muito eficientes na remoção das frações solúveis de matéria carbonada e, por outro lado, poder a biomassa com filamentosas funcionar como um filtro, impedindo a desfragmentação e a passagem de pequenos flocos, assim contribuindo para a diminuição de SST no efluente final. Esta é uma observação de campo frequente nas ETAR (Ana Nicolau, comunicação pessoal), e explicaria o facto desta filamentosa por um lado dificultar a sedimentação (correlação significativamente positiva com o IVL) e por outro levar a uma menor concentração de sólidos no efluente final (correlação significativamente positiva com a remoção de SST).

O Tipo 1701 mostrou estar associado a baixos valores de CBO<sub>5</sub> e nitratos no afluente final. Este resultados, para além dos elevados valores de correlação com a CBO<sub>5</sub> no efluente ( $r=0.301$ ,  $p<0.05$ ) obtidos e a relação desta filamentosa com a redução da eficiência de remoção do mesmo parâmetro, corroboram com as já mencionadas hipóteses, desta filamentosa estar associada a baixas concentrações de OD o que geralmente se traduz numa diminuição da capacidade depuradora. Neste caso, por não estarem disponíveis os valores de OD no tanque de arejamento, não pode ser provada esta associação na ETAR de Gaia Litoral. Por outro lado, a correlação encontrada entre a CBO<sub>5</sub> e a filamentosa entra em contradição com literatura que a associa a cargas médias.

A forte e significativa correlação entre o IVL e o Tipo 1863 ( $r=-0,553$ ,  $p<0.001$ ) é devida ao facto desta filamentosa ser muito curta e relativamente frágil e causar

mais frequentemente turbidez no efluente final do que episódios de *bulking*. No entanto, isto deveria levar a uma correlação positiva com os SST no efluente final, mas verificou-se, apenas, uma correlação negativa com a percentagem de remoção de SST.

Os coeficientes de correlação obtidos com a espécie *Haliscomenobacter hydrossis* demonstraram que esta filamentosa está associada a efluentes de melhor qualidade. De facto, este organismo surgiu pela primeira vez no dia 24 de maio, ou seja, um dia depois do período correspondente à obtenção de efluentes de melhor qualidade ao nível de SST, CQO e CBO<sub>5</sub>. Provavelmente, aqui também funcionou o fenómeno descrito para o Tipo 0914, de elevada capacidade de remoção da matéria carbonada por um lado e filtragem de sólidos de reduzidas dimensões pela rede de filamentos, por outro. Esta filamentosa, tal como o Tipo 0041/0675, parecem estar associadas a baixas concentrações de nitratos no afluente ( $r=-0.282^*$  e  $r=-0.288^*$ ,  $p<0.05$ , respetivamente).

Devido à elevada diversidade de filamentosas a partir do mês de maio não houve a relatar significativos prejuízos quanto à redução da qualidade do efluente, uma vez que estas competem entre si, pelo que nenhuma chega a dominar em grande número, não se tornando excessivas. O facto duma filamentosa não poder sobrepor-se às outras facilmente, e dispondo-se elas em relação aos flocos de diferentes formas, temos nessas ocasiões, uma biomassa filamentosa mais facilmente controlável, por um lado, e frequentemente com menos *bulking* visível, por outro.

## 5. Conclusões

Com este trabalho pretendia-se estudar a comunidade de protozoários e filamentosas numa ETAR de lamas ativadas. A densidade e frequência dos grupos e espécies constituintes da microfauna obtidas na ETAR de Gaia Litoral foram comparadas com os resultados das análises físico-químicas realizadas, e com os dados operacionais da mesma, com o intuito de se identificar possíveis espécies indicadoras de determinadas condições nos tanques de arejamento, e de disfunções ao nível do funcionamento da ETAR. Relativamente às bactérias filamentosas analisou-se, ainda, as potenciais causas para o seu aparecimento e/ou desenvolvimento excessivo, e os seus efeitos sobre a qualidade global do efluente.

No que refere aos protozoários, foram identificadas 24 unidades taxonómicas, tendo sido os grupos de ciliados sésseis e de móveis de fundo os mais frequentes e abundantes. Também as amibas com teca foram um grupo frequentemente observado, o que traduziu em efluentes de melhor qualidade, corroborando com a bibliografia já existente acerca da associação da presença destes grupos e um sistema com elevada eficiência depuradora e bom funcionamento. Em média, a densidade total da microfauna foi  $4470 \pm 3.30$  ind./ml, indicadora, por isso, de um sistema de tratamento eficiente, estando de acordo com as concentrações médias de CBO<sub>5</sub>, CQO e SST obtidas no efluente final, as quais não excederam os valores limite de descarga. O número de pequenos flagelados variou entre 0 e 63, portanto nunca excedendo os 100 indivíduos na diagonal da câmara de Fuchs-Rosenthal. As espécies mais abundantes foram *Aspidisca lynceus*, *Acineria uncicata*, *Vorticella convallaria*, *Epistylis* spp. e *Opercularia* spp.. Já as mais frequentemente encontradas nas lamas ativadas foram *Arcella* sp., *Aspidisca cicada* e *Aspidisca lynceus*, a *Acineria uncicata*, *Vorticella convallaria*, *Epistylis* sp. e, ainda, a *Tokophrya* spp.

Já o IBL obtido esteve situado entre 2 e 10, no entanto, foi superior a 7 na maioria das amostragens, essencialmente a partir do mês de junho, correspondente, por isso, a uma classe de qualidade entre II e I.

Quanto às filamentosas observadas, foram identificadas 17 espécies ou morfotipos no total, mas destas apenas os Tipos 1863, 0092 e 0041/0675 e *Nocardia* sp., foram dominantes ou codominantes em pelo menos uma das amostras analisadas. No entanto, as mais frequentes foram o Tipo 0041/0675 (100%), *Nocardia*

sp. (88%), o Tipo 0092 (65%) e *Haliscomenobacter hydrossis* (58%). Por vezes, nos dias de maior calor, foram observadas espumas à superfície dos tanques de arejamento, tendo estas sido causadas, essencialmente, pelo crescimento excessivo de nocardioformes. Pensa-se que, por vezes, o aumento da temperatura causou, também, o aparecimento do Tipo 1701, devido à redução dos níveis de OD. Verificou-se, ainda, que o principal fator condicionante do crescimento das bactérias filamentosas foi a taxa A/M, indo ao encontro dos resultados obtidos em diversos trabalhos desenvolvidos com filamentosas. Porém, outros fatores, como a idade das lamas, podem também ter condicionado o crescimento de filamentosas. O aparecimento do Tipo 0092 esteve associado ao aumento da idade das lamas, para além da baixa taxa A/M.

Através da observação conjunta dos resultados obtidos na análise da comunidade de protozoários, de filamentosas e dos parâmetros físico-químicos e operacionais da ETAR de Gaia Litoral, para além das condições de funcionamento registadas ao longo do estudo e dos coeficientes de correlação obtidos através da análise estatística, foi possível a identificação de 3 fases distintas. A primeira correspondeu ao final do período de manutenção da ETAR. Verificou-se uma predominância de *Opercularia* spp. e a existência de ciliados nadadores, nas primeiras duas amostras de Abril e na primeira de Maio. Foi obtida uma correlação positiva entre *Opercularia* spp e a taxa A/M. O mesmo se verificou com os ciliados nadadores. Neste período, a diversidade de espécies e morfotipos de filamentosas foi reduzida, no entanto, foram observadas espécies características de sistemas com baixas concentrações de oxigénio, como o Tipo 1863 e *Nostocoida limicola* II.

Já a segunda fase foi distinguida pela elevada densidade de ciliados sésseis, essencialmente, *Epistylis* e *Vorticella convallaria*, e ocorreu no mês de Maio, comprovando a associação da dominância deste grupo a situações transitórias. Verificou-se um aumento da diversidade de filamentosas, principalmente a partir do dia 22 de Maio, altura em que se obtiveram efluentes de melhor qualidade, coincidindo com o desenvolvimento dos ciliados móveis de fundo. A dominância de *Nocardia* sp. pela primeira vez, ocorreu na mesma altura em que surgiram os móveis de fundo e com o aparecimento do Tipo 21N, ambos associados a um aumento da carga orgânica no dia 10 de Maio (taxa A/M com um valor de 0.29 kg CBO/kg SSV.d).

A terceira fase durou até ao final do estudo, sendo assinalada pela codominância de ciliados móveis de fundo e sésseis, para além da presença de

amibas com teca, e pela existência de uma elevada diversidade de filamentosas, indicadores de uma elevada eficiência depuradora e bom funcionamento da ETAR.

Relativamente à utilidade das espécies de protozoários e filamentosas como indicadores da qualidade do efluente final e de funcionamento da ETAR, verificou-se através dos resultados das correlações de Kendall obtidas:

- Uma associação positiva entre a concentração e a percentagem de remoção de CQO no efluente final e a densidade de *Opercularia* spp. e ciliados nadadores, podendo ambos servir como indicadores de condições de degradação dos efluentes, logo efluentes de má qualidade em termos de CQO;
- Uma associação positiva entre a densidade relativa de *Opercularia* spp. e a taxa A/M, o que faz desta espécie um bom indicador de elevada taxa de descarga.
- Fortes e significativas correlações negativas entre as densidades relativas de ciliados móveis de fundo e a taxa A/M, podendo a dominância deste grupo indicar condições de baixa carga;
- *Tetrahymena pyriformis* associada a maiores concentrações de nitratos nos tanques biológicos e no efluente final, podendo ser um indicador de condições nitrificantes;
- Associação positiva entre a qualidade do efluente e a densidade de pequenos metazoários, essencialmente ao nível da remoção de SST e CQO.
- Associação positiva entre o Tipo 0092 e o IVL e a concentração de SST no tanque biológico, pelo que esta filamentosa não favorece a sedimentação das lamas.
- Associação do Tipo 1701 à redução das capacidades depuradoras das lamas, devido ao coeficiente de correlação positivo com a CBO<sub>5</sub> do efluente final.
- A espécie *Haliscomenobacter hydroxsis* está associada a efluentes de melhor qualidade;
- Uma forte e significativa correlação negativa entre o IVL e o Tipo 1863 ( $r=-0,553$ ,  $p<0.001$ ) e entre este morfotipo e a percentagem de remoção de SST, explicadas pela fragilidade e reduzido comprimento desta filamentosa.

Para além dos fatores condicionantes do crescimento de bactérias filamentosas já mencionados, os coeficientes de correlação entre as bactérias filamentosas e a concentração de SST, CBO<sub>5</sub>, CQO e nutrientes no afluente evidenciaram outras condições favoráveis tais como:

- Elevadas concentrações de SST, CQO, azoto amoniacal e fósforo no afluente, associadas aos Tipos 0092, 0914 e 21N (com exceção da concentração de azoto total relativamente ao Tipo 21N);
- Baixos valores de CBO<sub>5</sub>, associados ao Tipo 1701 e *Haliscomenobacter hydrossis*;
- Elevados valores de CBO<sub>5</sub>, associados ao Tipo 21N.

Apesar da dificuldade de identificação de bactérias filamentosas por um observador não experiente, a sua monitorização é de extrema importância, uma vez que permite a deteção prévia de fenómenos como *bulking* ou *foaming*, permitindo uma avaliação progressiva do desenvolvimento dos organismos filamentosos, para além da aquisição do conhecimento das variações sazonais de determinadas espécies e morfotipos. Atualmente está-se a apostar em técnicas de análise molecular.

Apenas através da identificação das filamentosas responsáveis por uma determinada disfunção, é que se poderão tomar medidas de combate ao crescimento excessivo da mesma. Mesmo a ausência total de filamentosas já é, por si só, um indicador de que algo de errado se passa. Daí a importância da sua análise rotineira.

Quanto ao IBL, a determinação dos coeficientes de correlação deste com os parâmetros físico-químicos apenas evidenciou uma correspondência entre o IBL e a eficiência de remoção de CBO<sub>5</sub>, mas pouco significativa ( $r=0.288$ ,  $p<0.05$ ). As correlações relativamente dispersas dos vários grupos de protozoários com os parâmetros físico-químicos levaram a que o IBL não se correlacionasse com a maior parte dos parâmetros físico-químicos.

Este índice não se mostrou muito eficaz na avaliação do desempenho da ETAR, uma vez que as classes de qualidade obtidas não corresponderam ao grau de qualidade do efluente final. Os resultados das análises físico-químicas evidenciaram um efluente de elevada qualidade ao longo de todo o estudo, mas foram obtidos valores de IBL correspondentes à classe de qualidade IV no final de Abril. No entanto, a determinação do IBL é útil na medida em que se quantificam as espécies presentes nas lamas ativadas, contribuindo, assim, para a monitorização da microfauna, permitindo a identificação de possíveis disfunções ao nível do funcionamento da ETAR.

Sendo assim, pode-se concluir que uma simples análise microscópica rotineira à microfauna das lamas ativadas e a determinação do IVL e da concentração de SST nos tanques biológicos e no efluente é uma maneira rápida de se obter informação

acerca das condições de operação e funcionamento de uma ETAR. No entanto, como se realizou neste estudo, nem sempre a composição da microfauna traduz a qualidade do efluente final, uma vez que existem outros processos de tratamento e outras condicionantes numa ETAR que também contribuem para a purificação das águas residuais.

Seria interessante introduzir técnicas de análise molecular de bactérias filamentosas nas análises laboratoriais de rotina, de forma a complementar a monitorização da microfauna e para uma melhor compreensão do papel das filamentosas nas lamas activadas, para além da realização de testes de toxicidade, ou mesmo da determinação rotineira do teor em sal, para deteção de eventuais descargas tóxicas ou intrusões de águas marinhas. Devido à proximidade da ETAR de Gaia Litoral ao mar, poderia ser útil o estudo dos efeitos das elevadas concentrações de sal na microfauna.



## 6. Referências bibliográficas

- [1] Sonune A., Ghatge R. Developments in wastewater treatment methods. Desalination 167 (2004) 55-63
- [2] Bitton G. Wastewater Microbiology. 4<sup>th</sup> edition. New Jersey, John Wiley & Sons; 2011
- [3] Signorile G., Molinari A., Lugoli F., Sciancalepore L., Montemurro P., De Donno A. Study of the correlation between microfauna and the macrostructure of activated sludge and the efficiency of biological wastewater treatment plants. Journal of preventive medicine and hygiene 51 (2010) 15-19
- [4] Dubber D., Gray NF. Enumeration of protozoan ciliates in activated sludge: Determination of replicate number using probability. Water research 43 (2009) 3443-3452
- [5] Madoni P. A sludge biotic index (SBI) for the evaluating of the biological performance of activated sludge plants based on the microfauna analysis. Wat. Res. 1994; 28(1): 67-65.
- [6] Millennium Ecosystem Assessment, 2005. Ecosystems and Human Well-being: Synthesis. Island Press, Washington, DC.
- [7] Wilderer PA, Schroeder ED, Kopp Horst. Global sustainability: the impact of local cultures: a new perspective for science and engineering, economics and politics. Weinheim: Wiley-VCH; 2005
- [8] Sincero AP. , Sincero GA. Physical-chemical treatment of water and wastewater. London: IWA Publishing; 2002
- [9] Quevauville P., Thomas O., Van der Beken A. Wastewater quality monitoring and treatment. Chichester: John Wiley & Sons; 2006

- [10] Mara DD. Domestic wastewater treatment in developing countries. London: Earthscan; 2004
- [11] Henze M. Biological wastewater treatment: principles, modelling and design. IWA Publishing; 2008
- [12] Barceló D., Petrović M., (CON) Afferden M. Waste Water Treatment and Reuse in the Mediterranean Region. London: Springer; 2011
- [13] Vesilind PA. Wastewater treatment plant design. IWA Publishing; 2003
- [14] Mara D., Horan NJ. Handbook of water and wastewater microbiology. Academic Press; 2003
- [15] Punmia BC. Waste Water Engineering. New Delhi: Firewall Media; 1998
- [16] Wang LK., Pereira NC., Hung Yung-Tse. Handbook of Environmental Engineering: Advanced biological treatment processes, Volume 9. New York: Springer; 2004
- [17] Henze M. Wastewater treatment: biological and chemical processes. 3<sup>rd</sup> edition. New York: Springer; 2002
- [18] Stoddard A. Municipal wastewater treatment: evaluating improvements in national water quality. New York: John Wiley and Sons; 2002
- [19] Hao X., Wang Q., Cao Y., van Loosdrecht MCM. Measuring the activities of higher organisms in activated sludge by means of mechanical shearing pretreatment and oxygen uptake rate. Water research 44 (2010) 3993-4001
- [20] Cervantes FJ. , Pavlostathis SG. , Van Haandel AC. Advanced Biological Treatment Processes for Industrial Wastewaters: Principles And Applications. London: IWA Publishing; 2006
- [21] Seviour RJ., Nielsen Per Halkjær. Microbial ecology of activated sludge. London: IWA Publishing; 2008

[22] Arregui L., Pérez-Uz B., Salvadó H., S. Serrano. Progresses on the knowledge about the ecological function and structure of the protists community in activated sludge wastewater treatment plants. Formatex 2010

[23] Matsuo Tomonori. Advances in water and wastewater treatment technology: molecular technology, nutrient removal, sludge reduction and environmental health, Volume 21. Amsterdam: Elsevier; 2001

[24] Tandoi Valter, Jenkins David, Wanner Jiří. Activated sludge separation problems: theory, control measures, practical experiences, volume 16. 16<sup>th</sup> edition. London: IWA Publishing; 2006

[25] Ginoris YP., Amaral AL., Nicolau A., Coelho MAZ., Ferreira EC. Development of an image analysis procedure for identifying protozoa and metazoa typical of activated sludge system. Water research 41 (2007) 2581 – 2589

[26] Jørgensen SE. Industrial waste water management. Studies in environmental Science 5. Amsterdam: Elsevier; 1979

[27] von Sperling M. , Chernicharo CA. de Lemos. Biological wastewater treatment in warm climate regions, Volume 1. London: IWA Publishing; 2005

[28] Cheremisinoff NP. Biotechnology for waste and wastewater treatment. New Jersey: William Andrew; 1996

[29] Okafor N. Environmental Microbiology of Aquatic and Waste Systems. London: Springer; 2011

[30] Nicolau, A. 2011. Manual do curso “Avaliação do desempenho das ETAR’s através da observação das comunidades de protozoários, metazoários e filamentosas”. Biotempo – Consultoria em Biotecnologia, Lda.

[31] von Sperling M. Wastewater characteristics, treatment and disposal. *Biological wastewater treatment, volume 1*. London: IWA Publishing; 2007

[32] Nicolau A., Martins MJ., Mota M., Lima Nelson. Importância da identificação das espécies responsáveis pelo crescimento filamentoso das ETAR.

[33] Glymph T. Wastewater microbiology: a handbook for operators. American Water Works Association; 2005

[34] Kragelund C., Levantesi C., Borger A., Thelen K., Eikelboom D., Tandoi V., et al. Identity, abundance and ecophysiology of filamentous bacteria belonging to the Bacteroidetes present in activated sludge plants. *Microbiology* 154 (2008) 886–894

[35] Brault Jean-Martin, Whalen P., Stuart P. Early warning signs of bulking in an activated sludge system through interpretation of ATP data in a systems analysis context. *Environmental Technology* 32 (14) (2011) 1649–1660

[36] Madoni P. Protozoa in wastewater treatment processes: A minireview. *Italian Journal of Zoology* 78(1) (2011) 3-11

[37] Zhou K, Xu M, Liu B, Cao H. Characteristics of microfauna and their relationships with the performance of an activated sludge plant in China. *Jou. Of Environ. Sci.* 2008; 20:482-486.

[38] Nicolau A., Dias N., Mota M., Lima N. Trends in the use of protozoa in the assessment of wastewater treatment. *Res. Microbiol.* 152 (2001) 621–630

[39] Mesquita DP., Amaral AL., Ferreira EC. Characterization of activated sludge abnormalities by image analysis and chemometric techniques. *Analytica Chimica Acta* (2011).

[40] Liu J., Yang M., Qi R., An W., Zhou J. Comparative study of protozoan communities in full-scale MWTPs in Beijing related to treatment processes. *WATER RESEARCH* 42 (2008) 1907 – 1918

[41] Jenkins D., Richard MG., Daigger GT. Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation problems. 3<sup>rd</sup> Edition. IWA Publishing; 2004

- [42] da Motta M., Amaral AL., Pons MN., Ferreira EC., Vivier H., Mota M. Estudo por análise de imagem do comportamento de uma estação de tratamento de efluentes sob condições transientes. *Energías Renovables y Medio Ambiente* 9 (2001) 49 - 55
- [43] Arévalo J., Moreno B., Pérez J., Gómez MA. Applicability of the Sludge Biotic Index (SBI) for MBR activated sludge control. *Journal of Hazardous Materials* 167 (2009) 784-789
- [44] Lee S, Basu S, Tyler CW, Wei IW. Ciliate populations as bio-indicators at Deer Treatment Plant. *Adv. Environ. Res.* 2004; 8:371-378.
- [45] Vanysacker L., Declerck A.J.S., Hellemans B., De Meester L., Vankelecom I., Declerck P. Bacterial community analysis of activated sludge: an evaluation of four commonly used DNA extraction methods. *Appl Microbiol Biotechnol* (2010) 88:299-307
- [46] Shuppler M., Mertens F., Schön G., Göbel B.U. Molecular characterization of nodardioform actinomycetes in activated sludge by 16s rRNA analysis. *Microbiology* (1995), 141, 51 3-521
- [47] Boon N., De Windt W., Verstraete W., Top E. M. Evaluation of nested PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) with group specific 16s rRNA primers for the analysis of bacterial communities from different wastewater treatment plants. *FEMS Microbiology Ecology* 39 (2002) 101-112
- [48] Wallner G., Erhart R., Amann R. Flow Cytometric Analysis of Activated Sludge with rRNA-Targeted Probes. *Applied and Environmental Microbiology* 61:5 (1995) 1859-1866
- [49] Drzewicki A, Kulikowska D. Limitation of Sludge Biotic Index application for control of a wastewater treatment plant working with shock organic and ammonium loadings. *Eur. J. Protistol.* 2011; 47: 287-294.
- [50] Madoni P, Davoli D, Chierici E. Comparative analysis of the activated sludge microfauna in several sewage treatment works. *Wat. Res.* 1993; 27(9): 1485-1491.

[51] Salvadó H, Gracia MP, Amigó JM. Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. *Wat. Res.* 1995; 29(4): 1041-1050.

[52] Lacko N, Bux F, Kasan HC. Survey of filamentous bacteria in activated sludge plants in Kwazulu-Natal. *Water SA* 1999; 25(1).

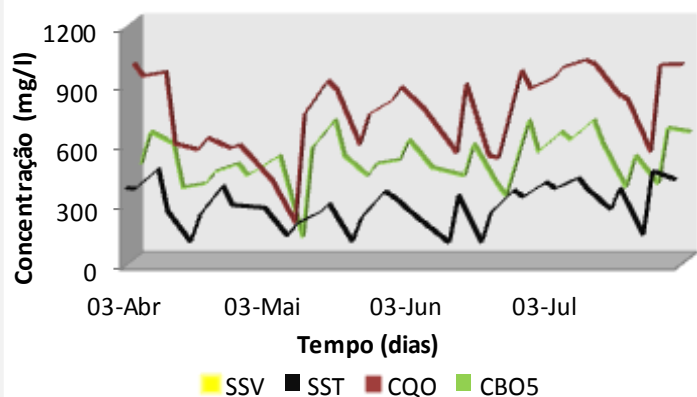
[53] Dubber D, Gray NF. The influence of fundamental design parameters on ciliates community structure in Irish activated sludge systems. *Eur. J. Protistol.* 2011; 47: 274-286.

[54] Tyagi VK, Subramaniyan S, Kazmi AA, Chopra AK. Microbial community in conventional and extended aeration activated sludge plants in India. Elsevier 2008; 8:550-554.

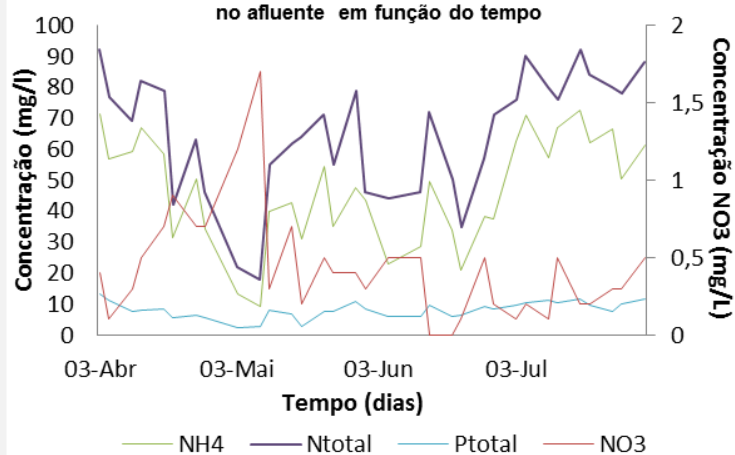
## 7. Anexos

### Anexo I – Gráficos

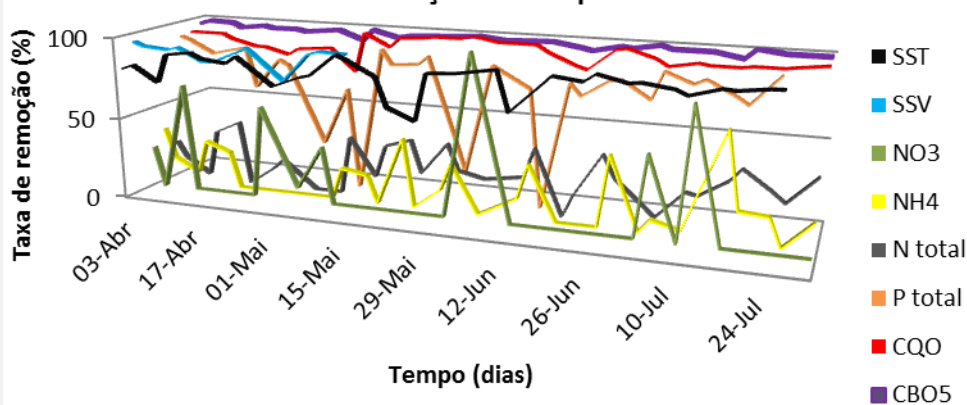
Evolução dos parâmetros F.Q. (SST, SSV, CQO, CBO5) do afluente em função do tempo



Evolução da concentração de nutrientes (azoto e fósforo) no afluente em função do tempo



Evolução da taxa de remoção dos parâmetros F.Q. em função do tempo



## Anexo II – Folhas de registo

### A) Protozoários

		Data de análise:		
Protozoários				
		Screening	1ª Contagem	2ª Contagem
F	<i>Euglena</i> sp.			
	<i>Peranema</i> sp.			
	Flagelado (não identificado)			
AT	<i>Arcella</i> sp.			
	<i>Cochliopodium</i> sp.			
	<i>Diffugia</i> sp.			
	<i>Euglypha</i> sp.			
	<i>Centropyxis</i> sp.			
N	<i>Colpidium</i> sp.			
	<i>Glaucoma scintillans</i>			
	<i>Tetrahymena pyriformis</i>			
	<i>Cinetochilum margaritaceum</i>			
	<i>Paramecium</i> sp.			
	<i>Sathrophilus</i> sp.			
	<i>Pseudocohnilembus pusillus</i>			
	<i>Uronema nigricans</i>			
	<i>Cyclidium glaucoma</i>			
	<i>Spirostomum teres</i>			
	<i>Dexiostoma campylum</i>			
	Nadador (não identificado)			
MF	<i>Chilodonella uncinata</i>			
	<i>Trithigmostoma cucullulus</i>			
	<i>Trochilia minuta</i>			
	<i>Drepanomonas revoluta</i>			
	<i>Aspidisca cicada</i>			
	<i>Aspidisca lynceus</i>			
	<i>Euplotes patella</i>			
	<i>Euplotes affinis</i>			
	<i>Euplotes moebiusi</i>			
	<i>Oxytricha</i> sp.			
	<i>Stylonychia</i> sp.			
	<i>Acineria uncinata</i>			
	<i>Microthorax</i> sp.			
	S	<i>Vorticella microstoma</i>		
<i>Vorticella infusionum</i>				
<i>Vorticella aquadulcis</i>				
<i>Vorticella convallaria</i>				
<i>Carchesium</i> sp.				
<i>Zoothamnium</i> sp.				
<i>Epistylis</i> sp.				
<i>Opercularia</i> sp.				
<i>Vaginicola</i> sp.				
<i>Stentor</i> sp.				
C		<i>Prorodon</i> sp.		
	<i>Coleps hirtus</i>			
	<i>Spathidium</i> sp.			
	<i>Litonotus</i> sp.			
	<i>Acineta</i> sp.			
	<i>Podophrya</i> sp.			
	<i>Tokophrya</i> sp.			
	<i>Plagiocampa rouxi</i>			
	<i>Amphileptus</i> sp.			
	Suctoria 1			



## B) Bactérias filamentosas

Data de análise:													
Filamento	Quantidade relativa	Ramificações	Mobilidade	Forma do filamento (tricoma)	Localização do filamento	Dimensão do filamento	Crescimento de bactérias sésseis	Bainha	Forma das células do filamento	Septo celular e endentação ao septo	Inclusões	Gram	Neisser
Outras bactérias													
Observações:													
Espumas:													

### Legenda

++++	"Só há praticamente filamentosas"
+++	"Filamentosas nitidamente em excesso"
++	" Filamentosas abundantes" - Filamentosas a formar pontes (algumas) a sair dos flocos
+	"Filamentosas em quantidades aceitáveis" - Ainda estão em quantidade aceitável
+/-	"Filamentosas presentes" - Quantidade estritamente necessária para formar o floco
-	"Filamentosas raras"

### Morfologia do floco

Firme	<input type="checkbox"/>
Fraco	<input type="checkbox"/>
Redondo	<input type="checkbox"/>
Compacto	<input type="checkbox"/>
Irregular	<input type="checkbox"/>
Difuso	<input type="checkbox"/>

### Influência das filamentosas na estrutura do floco

Pequena ou nenhuma	<input type="checkbox"/>
Ponte entre flocos	<input type="checkbox"/>
Floco aberto	<input type="checkbox"/>

### Observações:

### Anexo III – Folha de *Excel* para o cálculo do IBL

Data da recolha:						
Data da análise:						
		1ª Contagem	2ª Contagem	Total	ind/mL	%
Flagelados (grandes)	<i>Euglena</i> sp.					
	<i>Peranema</i> sp.					
	Flagelado (não identificado)					
Amiba (com teca)	<i>Arcella</i> sp.					
	<i>Cochliopodium</i> sp.					
	<i>Diffugia</i> sp.					
	<i>Euglypha</i> sp.					
Ciliados (nadadores livres)	<i>Centropyxis</i> sp.					
	<i>Colpidium</i> sp.					
	<i>Glaucoma scintillans</i>					
	<i>Tetrahymena pyriformis</i>					
	<i>Cinetochilum margaritaceum</i>					
	<i>Paramecium</i> sp.					
	<i>Sathrophilus</i> sp.					
	<i>Pseudocohnilembus pusillus</i>					
	<i>Uronema nigricans</i>					
	<i>Cyclidium glaucoma</i>					
	<i>Spirostomum teres</i>					
	Nadador (não identificado)					
	<i>Dexiostoma campylum</i>					
Ciliados (móveis de fundo)	<i>Chilodonella uncinata</i>					
	<i>Trithigmostoma cucullulus</i>					
	<i>Trochilia minuta</i>					
	<i>Drepanomonas revoluta</i>					
	<i>Aspidisca cicada</i>					
	<i>Aspidisca lynceus</i>					
	<i>Euplotes patella</i>					
	<i>Euplotes affinis</i>					
	<i>Euplotes moebiusi</i>					
	<i>Oxytricha</i> sp.					
	<i>Stylonychia</i> sp.					
	<i>Acineria uncinata</i>					
	<i>Microthorax</i> sp.					
Ciliados (sésseis)	<i>Vorticella microstoma</i>					
	<i>Vorticella infusionum</i>					
	<i>Vorticella aquadulcis</i>					
	<i>Vorticella convallaria</i>					
	<i>Carchesium</i> sp.					
	<i>Zoothamnium</i> sp.					
	<i>Epistylis</i> sp.					
	<i>Opercularia</i> sp.					
	<i>Vaginicola</i> sp.					
	<i>Stentor</i> sp.					
Ciliados carnívoros	<i>Prorodon</i> sp.					
	<i>Coleps hirtus</i>					

	<i>Spathidium</i> sp.				
	<i>Litonotus</i> sp.				
	<i>Acineta</i> sp.				
	<i>Podophrya</i> sp.				
	<i>Tokophrya</i> sp.				
	<i>Plagiocampa rouxi</i>				
	<i>Amphileptus</i> sp.				
	Suctoria 1				
Metazoários	Rotífero				
	Nemátodo				
	Gastrotrichi				
	Oligocheti				
	Tardigrado				
	TOTAL				

Média

Pequenos Flagelados			
---------------------	--	--	--

Densidade Microfauna
----------------------

--	--

Número de espécies
--------------------

--

%N
%S
%A
%MF


**Observações:**

**Screening:**

## Anexo IV – Colorações Gram e Neisser

### A) Kit de coloração Safranin O Counterstain (Vidrolab)

Este Kit contém:	Resultados:	
Cristal Violeta 0.5% aquoso	Examinar ao microscópio com lente de imersão	
Iodo de Gram	Organismos Gram +	Coram de roxo/preto
Descolorante (contém Etanol UN1170)	Organismos Gram -	Coram de vermelho
Safranina O 0.5% aquoso		

### B) kit de coloração Neisser

Este Kit contém:	Resultados:	
Neisser Stain A (methylene blue solution)	Examinar ao microscópio com lente de imersão	
Neisser Stain B (crystal violet solution)	Organismos Gram +	Coram de preto/azul
Neisser Stain C (Iodine solution)	Organismos Gram -	Coram de amarelo/castanho
Neisser Stain D (chrysoidine solution)		